

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

UNIDAD DE POSGRADO

Reproducción en la vicuña macho *Vicugna vicugna*:

evaluación del método de contención química, colección de
semen, análisis del eyaculado y biometría testicular

TESIS

para optar el grado de Magíster en Zoología con Mención en Ecología y
Conservación

AUTOR

Marco Alonso Enciso Hoyos

Lima-Perú

2009

Dedicatoria

A Dios, por estar siempre conmigo.

A Teodosio, mi padre, por mandarme toda su energía desde donde esté.

A Carmen Rosa, mi madre, por ser mi eterno apoyo.

A Diana, mi ángel, por seguir iluminando mi vida.

A mis amigos y compañeros de maestría, Guille, Lichi, Gian, Lilia, Wilson, Claudia, Miguel y Roberto, gracias por compartir agradables momentos.

A mis amigos de siempre, los que están en las buenas y en las malas.

Agradecimientos

Al personal del CIP Quimsachata-INIEA Puno, especialmente a los doctores Teodosio Huanca y Mario Lino Gonzáles, por las facilidades y el trato amical que siempre me han brindado.

A Lizette Bermúdez y Gianmarco Rojas del Parque Zoológico Huachipa, por la colaboración con el proyecto.

A Susana Gonzáles del Zoológico Municipal del Cerrito de la Libertad, Huancayo, por el desinteresado apoyo y colaboración.

A la Dra. Martha Valdivia, por la asesoría y la confianza depositada, aún sin conocerme.

Al Dr. Willy Huanca, por ser un segundo padre y haberme inculcado la inquietud por la investigación.

A Claudia Rodríguez, Rafael Alvis y Diana Gálvez Roeder, por el valioso apoyo brindado durante y después de la ejecución del proyecto.

Al Laboratorio Agroveterinario Market, por la colaboración con parte de los anestésicos utilizados en el estudio.

A la Dra. Bibiana Vilá y Kike Michaud por colaborar con sus fotos.

A la Escuela de Posgrado de la Facultad de Ciencias Biológicas, UNMSM, especialmente a la Dra. Libertad Alzamora y a la Sra. Dorita Aguilar, por haber soportado angelicalmente las constantes solicitudes y trámites de último minuto.

Finalmente, un especial agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), por la concesión de la Beca de Postgrado para realizar estudios de Maestría, Convocatoria Nacional 2006, Contratos: N°202-2006-CONCYTEC-OAJ, N°079-2007-CONCYTEC-OAJ, N°283-2007-CONCYTEC-OAJ y N°056-2008-CONCYTEC-OAJ.

ÍNDICE

	Pág.
Lista de Tablas.....	vi
Lista de Figuras.....	vii
Resumen.....	ix
Abstract.....	x
I. INTRODUCCIÓN.....	4
II. ANTECEDENTES.....	4
2.1. La Vicuña (<i>Vicugna vicugna</i>).....	4
2.1.1. Aspectos biológicos.....	4
2.1.1.1. Origen, evolución y taxonomía.....	4
2.1.1.2. Subespecies.....	6
2.1.1.3. Distribución y características ecológicas.....	9
2.1.1.4. Dieta.....	12
2.1.1.5. Estructura social.....	13
2.1.1.6. Reproducción.....	14
2.1.2. Conservación.....	15
2.1.2.1. Importancia histórica, social y económica de la vicuña.....	15
2.1.2.2. Amenazas.....	15
2.1.2.3. Utilización.....	20
2.1.2.4. Estado actual de conservación.....	21
2.1.2.5. Necesidades de conservación.....	22
2.2. Reproducción y conservación.....	23
2.2.1. Fisiología reproductiva en el macho.....	24
2.2.1.1. Espermatoogénesis.....	24

	Pág.
2.2.1.2. Mecanismo de eyaculación.....	25
2.2.2. Técnicas andrológicas.....	28
2.2.2.1. Evaluación genital y biometría testicular.....	28
2.2.2.2. Electroeyaculación.....	29
2.2.2.3. Colecta y evaluación espermática.....	32
2.3. Contención química.....	34
III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	37
IV. MATERIALES Y MÉTODOS.....	38
4.1. Animales y localización.....	38
4.2. Contención química.....	39
4.3. Biometría testicular.....	40
4.4. Colección de semen.....	49
4.5. Evaluación de semen.....	50
4.6. Análisis estadístico.....	54
V. RESULTADOS.....	55
5.1. Contención química.....	55
5.2. Electroeyaculación, evaluación espermática y biometría testicular.....	56
VI. DISCUSIÓN.....	65
VII. CONCLUSIONES.....	71
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	72
IX. ANEXOS.....	85

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Tamaño poblacional de vicuñas al 2008, según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN).....	17
Tabla 2. Dosis de ketamina, xilacina y asociaciones para la inducción y mantenimiento de CSA adultos.....	36
Tabla 3. Registro de las vicuñas empleadas en el estudio: Identificación, edad y peso.....	41
Tabla 4. Valores promedio de las características seminales en vicuña (<i>Vicugna vicugna</i>).....	61

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. La vicuña del sur, <i>Vicugna vicugna vicugna</i> en las pampas argentinas.	7
Figura 2. La vicuña norteña, <i>Vicugna vicugna mensalis</i> en los andes peruanos.	8
Figura 3. Mapa de distribución de la vicuña según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN).	11
Figura 4. <i>Chaccu</i> de vicuñas en la Reserva Nacional Pampa Galeras, Ayacucho.	18
Figura 5. Cacería furtiva de vicuñas en el Perú.	19
Figura 6. Sistema nervioso relacionado al mecanismo de eyaculación.	27
Figura 7. Los primeros equipos de electroeyaculación.	30
Figura 8. Agentes anestésicos y sedativos utilizados en el estudio.	42
Figura 9. Pesado del animal luego de la contención física.	43
Figura 10. Aplicación de dardo anestésico mediante cerbatana.	44
Figura 11. Vicuña en reposo luego de la aplicación del dardo anestésico.	45
Figura 12. Vicuña en decúbito esternal bajo efectos de la anestesia.	46
Figura 13. Monitoreo de los signos vitales durante la anestesia.	47
Figura 14. Registro de las dimensiones testiculares.	48
Figura 15. Electroeyaculador utilizado para la colección de semen de vicuñas.	51
Figura 16. Procedimiento de electroeyaculación.	52
Figura 17. Aspecto macroscópico del semen de vicuña.	53
Figura 18. Variación en la frecuencia cardíaca de vicuñas sometidas a anestesia para electroeyaculación.	58

Figura 19. Variación en la frecuencia respiratoria de vicuñas sometidas a anestesia para electroeyaculación.....	59
Figura 20. Variación en la temperatura de vicuñas sometidas a anestesia para electroeyaculación.....	60
Figura 21. Espermatozoides de vicuña, observación directa.....	62
Figura 22. Anormalidades morfológicas de espermatozoides de vicuña.....	63
Figura 23. Imágenes del análisis morfométrico de espermatozoides de vicuña por el software Sperm Class Analyzer®	64

RESUMEN

La vicuña (*Vicugna vicugna*) es una especie silvestre de Camélido Sudamericano (CSA). Está clasificada en Bajo Riesgo según la IUCN, no obstante, como continúa estando amenazada, se requiere estudios enfocados en su conservación. Una herramienta de conservación es la reproducción asistida, sin embargo, para hacer uso de ella, primero se requiere conocer la fisiología básica de la especie. En ese sentido, el presente estudio tuvo como objetivo desarrollar un protocolo de contención química y colección de semen en vicuñas mediante la técnica de electroeyaculación, así como caracterizar el eyaculado obtenido. Fueron utilizados 9 individuos machos adultos de *V. vicugna*, clínicamente sanos, pertenecientes al Parque Zoológico Huachipa (n=3), Lima; CIP Quimsachata-INIEA (n=4), Puno; y Zoológico Municipal Cerrito de La Libertad (n=2), Huancayo. La electroeyaculación se realizó bajo anestesia general, utilizando la combinación de ketamina ($7,83 \text{ mg Kg}^{-1}$), xilacina ($1,20 \text{ mg Kg}^{-1}$) y atropina ($0,07 \text{ mg Kg}^{-1}$) (n=19), además de midazolam ($0,35 \text{ mg Kg}^{-1}$) (n=9). La colección de semen (n=16) se llevó a cabo con un electroeyaculador que constaba de un transductor rectal de 2 cm de diámetro y 3 electrodos de cobre espaciados por 0,4 cm. El animal fue colocado en decúbito y se le introdujo el transductor rectal lubricado de 10 a 15 cm dentro del recto. El protocolo de electroeyaculación consistió de estímulos progresivos desde los 2 V hasta los 12 V. Fue colectado eyaculado en 15 de los procedimientos. Los valores seminales encontrados son los siguientes ($\bar{x} \pm EE$): volumen $0,85 \pm 0,12 \text{ ml}$; pH $7,09 \pm 0,16$; motilidad espermática no progresiva $28,08 \pm 3,56 \%$; concentración $166,29 \pm 60,92 \times 10^4$ espermatozoides/ml y espermatozoides normales $62,77 \pm 1,96 \%$. En cuanto al volumen testicular, el valor total encontrado fue de $22,95 \pm 2,28 \text{ cm}^3$, el cual no tiene correlación con el volumen seminal y la concentración espermática ($r = 0,06$ y $r = 0,16$; $P < 0,05$). Se concluye que la colección de semen por electroeyaculación en vicuñas es factible, asimismo las características seminales observadas son similares a las otras especies de CSA.

Palabras clave: Camélidos Sudamericanos, anestesia, electroeyaculación, características seminales.

ABSTRACT

The vicuna (*Vicugna vicugna*) is a wild species of South American Camelid (SAC). From the conservation point of view, is classified at Low Risk by the IUCN. However, it is still a threatened species so many studies for their conservation are required. The assisted reproduction is a conservation tool, however it is necessary to know first the basic physiology of the species. In such sense, the aim of this study was to develop a protocol for chemical immobilization and semen collection using the electroejaculation technique, as well as to characterize the ejaculate obtained. Nine adult males of vicuna, clinically healthy, located at the Huachipa Zoological Park, Lima (n=3), Quimsachata Research Station, Puno (n=4) and Zoo Cerrito de La Libertad, Huancayo (n=2) were used. The electroejaculation procedure was carried out under general anesthesia. The combination of ketamine (7,83 mg Kg⁻¹), xilacine (1,20 mg Kg⁻¹) and atropine (0,07 mg Kg⁻¹) (n=19) were used, besides of midazolam (0,35 mg Kg⁻¹) (n=9). Semen collection (n=16) was carried out with an electroejaculator with a 2 cm diameter probe with 3 ventral electrodes spaced about 0,4 cm. With the animal in recumbent position, the lubricated probe was inserted 10 to 15 cm into the rectum. Progressive electrical stimuli from 2 V to 12 V was applied. Fifteen ejaculates were collected. Seminal values of the ejaculates were as follow ($\bar{x} \pm SE$): volume 0,85 \pm 0,12 ml, pH 7,09 \pm 0,16, non progressive sperm motility 28,08 \pm 3,56 %; sperm concentration 166,29 \pm 60,92 x 10⁴ spermatozoa/ml and sperm normal morphology 62,77 \pm 1,96 %. In the case of testicular volume, the total value found was 22,95 \pm 2,28 cm³, and do not show correlation with seminal volume and sperm concentration ($r = 0,06$ y $r = 0,16$; $P < 0,05$). These results demonstrate that it is possible to collect semen by electroejaculation and the vicuna's seminal values are similar with the others (SAC).

Key words: South American Camelids, anesthesia, electroejaculation, seminal characteristics.

I. INTRODUCCIÓN

Estudios predictivos sugieren que miles de especies se extinguirán hasta fin de siglo. En busca del desarrollo, el hombre ha expandido su territorio de ocupación de manera desordenada, principalmente en lo que concierne a las actividades extractivas y agropecuarias. Como principal consecuencia tenemos la destrucción y fragmentación de hábitats, exponiendo a las especies silvestres a las más diversas amenazas. La destrucción de hábitats puede tener consecuencias inmediatas, como la propia desaparición de especies a nivel local. La fragmentación puede llevar a la formación de islas de hábitats, aislando poblaciones y consecuentemente, impidiendo el flujo de información genética, lo que ocasiona una disminución de la variabilidad genética de las poblaciones envueltas. Según Ralls *et al.* (1979) y O'Brien y Evermann (1988), la disminución de la variabilidad genética puede afectar la espermatogénesis y la ovulación, aumentar la susceptibilidad a enfermedades y aumentar la morbilidad y mortalidad perinatal.

Existe un consenso general de que el mantenimiento de la diversidad genética de una especie determinada es dependiente de su reproducción (Wildt, 1989). En ese contexto, la aplicación de técnicas de reproducción asistida surge como una herramienta en la conservación de especies amenazadas de extinción, en la medida que puede minimizar la pérdida de variabilidad genética por medio de programas de manejo reproductivo. Aunque la reproducción asistida, incluyendo la congelación de gametos y embriones,

aún no ha sido ampliamente utilizada y difundida para la conservación de especies amenazadas, ya se han dado grandes pasos, como nacimientos de guepardos (*Acinonyx jubatus*) o pandas gigantes (*Ailuropoda melanoleuca*) por métodos artificiales, sugiriendo que la reproducción asistida será un elemento esencial en el manejo de algunas especies silvestres amenazadas o en vías de extinción en las próximas décadas (Wildt, 1993).

Según el Grupo de Especialistas de Manejo en Cautiverio de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (CBSG/IUCN), son muchos los beneficios que la aplicación de técnicas de reproducción asistida pueden traer para el manejo conservacionista (CBSG, 2009), entre ellas se citan las siguientes:

- i. Simplifica el intercambio de material genético entre animales de dos o más zoológicos participantes del programa de manejo, así como entre animales en cautiverio y de vida libre, pues el transporte de semen es más económico y disminuye los riesgos inherentes al transporte de animales.
- ii. Permite la reproducción con animales con deficiencias reproductivas físicas o de comportamiento. Esto es muy importante cuando los animales envueltos representan líneas genéticas que no pueden ser perdidas.
- iii. Posibilita el rápido crecimiento poblacional, que asume una real importancia si solamente una pequeña población fundadora está disponible en especies amenazadas de extinción.
- iv. Auxilia en la corrección de la relación machos/hembras, por ejemplo, haciendo transferencias de embriones de un determinado sexo.
- v. Regula el número de crías por individuo.
- vi. Posibilita la realización de investigaciones en las áreas de enfermedades infecciosas y parasitarias, proveyendo animales en número suficiente, como modelos biológicos; y
- vii. Posibilita la formación de bancos de gametos o bancos de recursos genómicos (BRG's) y embriones para cada especie de interés.

Para que podamos aplicar las técnicas de reproducción asistida en las diversas especies de interés, se debe obtener primeramente los conocimientos básicos de la fisiología reproductiva, como por ejemplo las características normales del eyaculado. Por lo tanto, se deben desarrollar métodos seguros de colecta de muestras, de tal forma que se garantice el bienestar del animal, así como la seguridad y tranquilidad para el equipo asistente.

II. ANTECEDENTES

2.1. La Vicuña (*Vicugna vicugna*)

2.1.1. Aspectos biológicos

2.1.1.1. Origen, evolución y taxonomía

Los ancestros de la familia Camelidae se originaron en los grandes llanos de América del Norte durante el Eoceno, hace 45 a 40 millones de años (m.a.). A finales de este período, los camélidos migraron en dirección a África y Asia a través del estrecho de Bering y luego de sucesivas transformaciones evolucionan en dos tribus. La primera, *Camelini*, incluye a los actuales Camello Bactriano (*Camelus bactrianus*), que habita en Asia, y Dromedario (*Camelus dromedarius*) que tiene su distribución en el norte de África. La segunda, *Lamini*, se mantiene en América del Norte y también migra hacia América del Sur, a través de istmo de Panamá y es la que da origen a los actuales Camélidos Sudamericanos (CSA) (Torres, 1992; Wheeler, 2006).

El género ancestral norteamericano *Pliauchenia* (11-9 m.a.) fue el que evolucionó a la tribu *Lamini* la cual dio origen a dos ramas, la primera, de

distribución exclusivamente norteamericana, que contenía a *Alforjas* (10-4.5 m.a.) y *Camelops* (4.5-0.1 m.a.), mientras que la segunda contenía a *Hemiauchenia* (10-0.1 m.a.), *Paleolama* (2-0.1 m.a.), *Lama* (2 m.a. hasta la actualidad) y *Vicugna* (2 m.a. hasta la actualidad), todos éstos géneros presentes en América del Sur. Al final del Pleistoceno, hace 12 a 10 mil años, luego de continuas migraciones, los camélidos se extinguen en América del Norte. *Camelops*, *Hemiauchenia* y *Paleolama* desaparecieron, quedando *Vicugna* y *Lama* como únicos sobrevivientes de la tribu *Lamini* (Wheeler, 2006).

Desde el punto de vista taxonómico, los camélidos sudamericanos (CSA) pertenecen al orden Artiodactyla, suborden Ruminantia, infraorden Tylopoda y la familia Camelidae. Están clasificados en la tribu Lamini y en los géneros *Vicugna* y *Lama* (Torres, 1992). En la actualidad los CSA están representados por la vicuña (*Vicugna vicugna*), y el guanaco (*Lama guanicoe*), que son las especies silvestres; y por la alpaca (*Vicugna [Lama] pacos*) y la llama (*Lama glama*), que son las especies domésticas (Torres, 1992; Zúñiga, 2004).

Ha existido considerable confusión en la literatura sobre la clasificación sistemática de los CSA. A nivel de género muchos aplican incorrectamente *Auchenia*, Illiger 1811, un nombre previamente utilizado por Thunberg en 1789 para describir un género de escarabajos y, por tanto, no disponible para los CSA. Otros autores han ignorado a *Vicugna*, Miller 1924, clasificando la vicuña en el género *Lama*, argumentando que este género consiste en una sola especie con el mismo cariotipo de los otros CSA ($2n=74$), pudiendo cruzarse y producir híbridos fértiles con las otras tres especies (Wheeler, 2006). Sin embargo, la posibilidad de los CSA de cruzarse y producir híbridos fértiles se debe a su reciente separación en dos géneros (en términos de evolución), ocurrido hace aproximadamente 2 m.a. según las evidencias paleontológicas. El análisis de ADN publicado por Kadwell *et al.* (2001) comprueba la separación genérica de *Lama* (guanaco) y *Vicugna* (vicuña), y además proporciona una fecha de 2 a 3 m.a. en base al reloj mitocondrial, y estudios más recientes de ADN también confirman la separación genérica (Marin *et al.*, 2007).

La literatura presenta una amplia, diversificada y a veces encontrada gama de opiniones respecto a la domesticación de la alpaca y la llama. Sin embargo

recientemente han sido encontradas numerosas evidencias directas de la domesticación de éstos CSA a través del análisis de los huesos de animales provenientes de sitios arqueológicos ubicados en zonas alto andinas de nuestro país. Éstos materiales arqueológicos evidencian que la vicuña es el ancestro o progenitor de la alpaca y que el guanaco lo es de la llama y que ésta domesticación ocurrió entre los 7000 y 6000 años atrás (Wheeler, 1988; Torres, 1992).

2.1.1.2. Subespecies

Se han descrito dos subespecies geográficas de la vicuña. La primera, *Vicugna vicugna vicugna* (Molina, 1872) (Fig. 1), se encuentra al sur de los 18° S y la segunda subespecie *Vicugna vicugna mensalis* (Thomas, 1917) (Fig. 2) se encuentra al norte. Las dos subespecies se diferencian por variaciones de tamaño y coloración de pelaje. Thomas (1917) fundamentó la creación de *V. v. mensalis* principalmente por el menor tamaño en longitud de los tres molares y en alzada a la cruz en relación a la vicuña austral o sureña, *V. v. vicugna*, siendo las diferencias de 45 vs 57 mm y 70 vs. 90 mm respectivamente (Wheeler, 2006).

De las dos subespecies existentes, la más estudiada y reconocida es la vicuña norteña, *V. v. mensalis*, con su “color vicuña” y mechón pectoral. La coloración de su pelaje es marrón canela en la parte dorsal y lateral del cuerpo, a lo largo del cuello, y la porción dorsal de la cabeza. El pecho, vientre, y el sector interno de las patas, al igual que la parte inferior de la cabeza, son blancos. La punta de la cola, y el sector ventral de la misma son de color blanco. La longitud promedio del vellón en animales adultos es de 3,28 cm, y el largo del mechón pectoral alcanza los 18 a 20 cm (Hofmann *et al.*, 1983). El diámetro promedio de la fibra del vellón es de $12,52 \pm 1,52 \mu\text{m}$ (Carpio y Solari, 1982).



Figura 1. La vicuña del sur, *Vicugna vicugna vicugna* en las pampas argentinas.
Foto: Bibiana L. Vilá.



Figura 2. La vicuña norteña, *Vicugna vicugna mensalis* en los andes peruanos.
Foto: Marco A. Enciso.

La coloración de *V. v. vicugna* es más clara, clasificada en el sistema del comercio internacional como LF “light fawn” vs. “vicuña” para *V. v. mensalis*. El color blanco cubre una mayor área del cuerpo, subiendo desde el vientre hasta la mitad de las costillas, cubriendo la ijada (espacio entre las costillas y la cadera) y el lado anterior de las extremidades traseras. Además no exhibe el mechón pectoral (Wheeler, 2006).

Las vicuñas no presentan dimorfismo sexual significativo. En estudios realizados en 50 hembras y 50 machos de *V. v. mensalis*, de 1 año y medio a 6 años y medio, procedentes de Pampa Galeras, Ayacucho, la alzada a la cruz fue de 86,50 cm para hembras y 90,43 cm para machos (Paucar *et al.*, 1984). Asimismo, los promedios de longitud total fueron de 96,33 cm en las hembras y 110,73 cm en los machos, con pesos promedios de 33,24 Kg y 36,22 Kg para hembras y machos respectivamente. Sin embargo existen discrepancias en relación a las medidas de longitud total, pues Hofmann *et al.* (1983) reporta cifras de 137 a 181 cm en animales adultos procedentes de la misma área, y otros autores dan cifras de 144 a 175 cm (Pearson, 1951). En relación al peso vivo cabe destacar que algunos autores mencionan pesos superiores a los reportados por Paucar *et al.* (1984), que van desde los 30 Kg hasta los 65 Kg (Miller *et al.*, 1973).

Estudios de ADN nuclear (microsatélites) y mitocondrial realizados en muestras de vicuñas procedentes de todo el rango de su distribución actual confirman la separación en dos subespecies y demuestran una relación ancestral entre *V. v. mensalis* y su forma doméstica, la alpaca, *V.(L.) pacos* (Kadwell *et al.*, 2001; Palma *et al.*, 2001; Marin *et al.*, 2007).

2.1.1.3. Distribución y características ecológicas

La distribución actual de la vicuña corresponde a los ecosistemas de puna y alto andinos. Sin embargo, evidencias paleontológicas indican que la vicuña se originó en los llanos argentinos hace 2 m.a. (Cabrera, 1932). Posteriormente

se registra su presencia en las vertientes orientales de los Andes bolivianos según las evidencias procedentes de Tarija fechadas entre 97 a 73 mil años (MacFadden *et al.*, 1983). Solamente llegaron a ocupar las altas punas de los Andes y las zonas frías de la Patagonia durante los eventos climáticos asociados con la última glaciación del Pleistoceno y el establecimiento del régimen climático del Holoceno, hace 14 a 9 mil años (Wheeler, 1995; Wheeler *et al.*, 1976).

Estudios arqueozoológicos (Hesse, 1982; Wheeler, 1988) sugieren que la distribución prehispánica de la vicuña era más amplia que la actual; que se extiende desde 9°50' en el Parque Nacional Huascarán, Perú (Hofmann *et al.*, 1983) hasta 27°30' latitud sur en las provincias de Atacama, Chile y San Juan, Argentina (Miller *et al.*, 1973) y hacia el extremo oriental de las punas de Bolivia y Perú (Fig. 3). En toda esta zona su distribución está limitada a elevaciones entre 3300 y 4300 m.s.n.m. (Hofmann *et al.*, 1983). Antiguamente este territorio se extendió hasta el extremo sur del continente, donde restos de vicuña han sido encontrados en dos sitios arqueológicos de la Región de Magallanes, Chile, con fecha de 13500 años de antigüedad (Prieto y Canto, 1997). En 1782, la población más austral registrada por Molina fue la de Sierra de Coquimbo, ubicado a 30° S. Recientemente, algunas vicuñas importadas de Perú, Chile y Bolivia han sido "reintroducidas" en el área de Cotopaxi (Ecuador), sin embargo hasta el momento, no existen evidencias paleontológicas (Hofmann, 1983) ni arqueozoológicas (Miller y Gill, 1990) que confirmen que la especie haya habitado esa zona en el pasado (Wheeler, 2006).

Actualmente la distribución de la vicuña está limitada a elevaciones mayores de 3300 m.s.n.m., un hábitat difícil y muy exigente. A 4000 m.s.n.m., tanto la presión atmosférica como la presión parcial de oxígeno y de dióxido de carbono se reducen en aproximadamente 40 % con relación a los valores al nivel del mar, y como el aire es menos denso disminuye su capacidad de absorción y retención del calor radiante. Por lo tanto la temperatura ambiental está directamente relacionada con la intensidad de la radiación solar y el resultado de ello es un clima que se caracteriza por cambios drásticos de temperatura diurna. La temperatura media anual a los 4000 m.s.n.m. es de

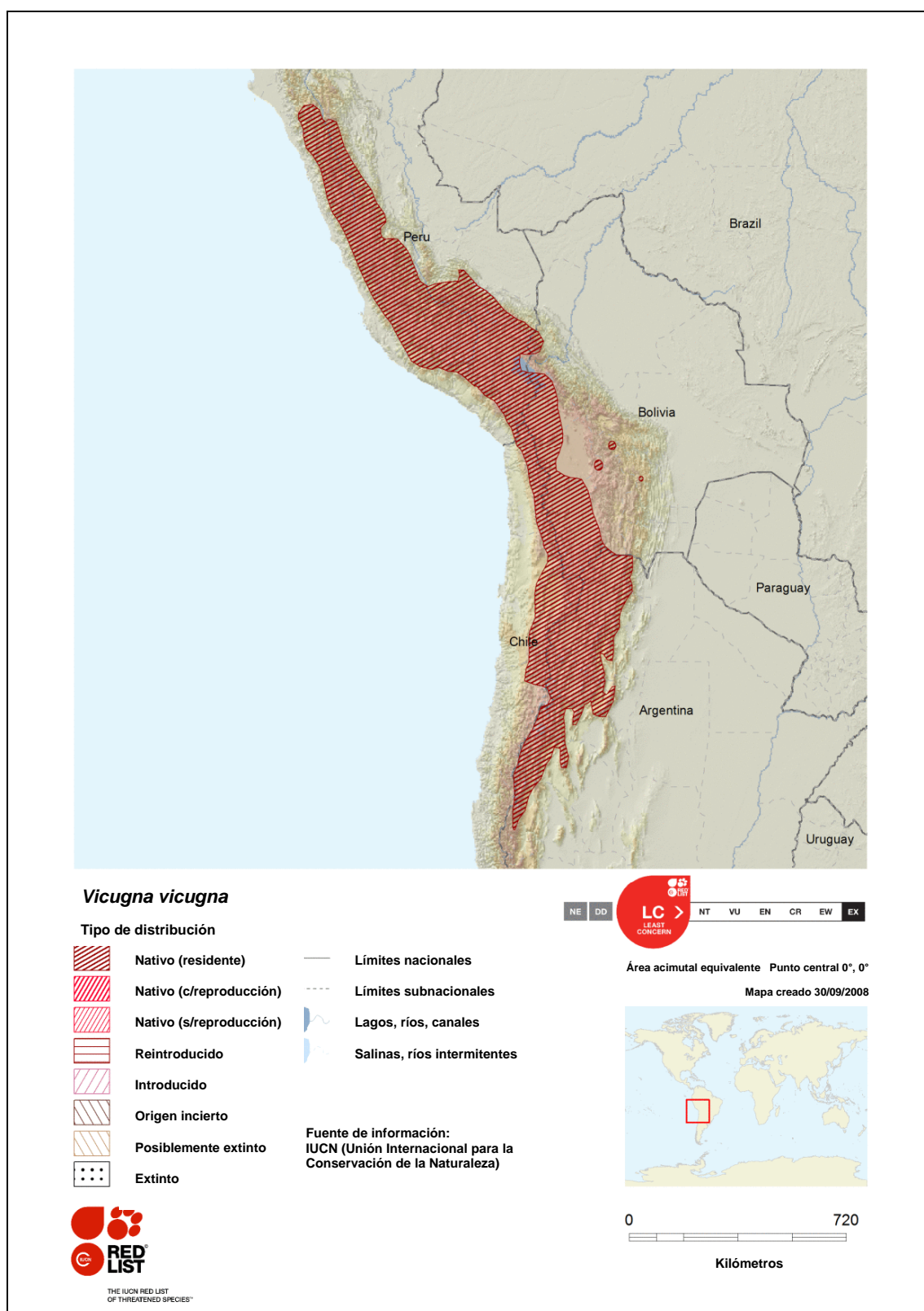


Figura 3. Mapa de distribución de la vicuña según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN). Fuente: Lichtenstein *et al.* (2008).

8°C, pero la norma es una fluctuación diaria de 17°, con heladas 300 noches al año (Winterhalder y Thomas, 1978). El promedio de precipitación anual disminuye de Norte a Sur y de Este a Oeste a lo largo y ancho de los Andes. Los totales varían de 0 a 1000 mm según el lugar, y tres cuartas partes de la precipitación total normalmente caen durante los meses de Octubre a Marzo. En contraste, los meses secos, de Marzo a Octubre, se caracterizan por una mayor variación de temperatura diaria y mayor número de noches de heladas.

2.1.1.4. Dieta

Las actividades de alimentación de la vicuña se concentran durante el día, siendo casi exclusivamente pastoreadora, a diferencia del otro camélido silvestre, el guanaco, que además de pastorear tiene hábitos de ramoneo. En el Perú, el territorio alimenticio preferido por la vicuña se caracteriza por asociaciones dominadas por gramíneas perennes, como *Calamagrostis* y *Festuca*. Los animales prefieren gramíneas cortas y herbáceas, y algunas plantas (almohadillas y arrosetadas), seleccionando las partes más succulentas. Raramente comen los pastos toscos amacollados, y solamente ramonean la tola (*Lepidophyllum*) cuando hay extrema necesidad (Koford, 1957, Pujalte y Reca, 1985).

Según los estudios realizados por Franklin en Pampa Galeras (1978), la composición botánica de los territorios preferidos por la vicuña (determinado en base al tiempo de pastoreo en cuatro asociaciones botánicas) está compuesta de 34,4 a 45,6 % de Gramineae de los géneros *Calamagrostis*, *Festuca*, *Muhlenbergia*, *Poa*, *Dissanthelium*, y *Stipa* en orden de frecuencia. Las otras familias botánicas presentes incluyen de 2,3 a 12,9 % de Compositae (*Werneria pignaea*), 9,1 a 12,3 % Cyperaceae (*Eleocharis*, *Cyperaceae* sp.), 7,2 a 14,6 % Roseaceae (*Alchemilla pinnata*), 0 a 4,9 % Leguminosae (*Trifolium amabile*), 0 a 6,2% Caryophyllaceae (*Caryophyllaceae* sp.), 0 a 4,5 % Malvaceae (*Nototriche*, *Malvastrum*), 0 a 3,7 % Juncaceae (*Isoetes*), y 3,1 a 12,8 % de especies no identificadas.

Las vicuñas no tienen la capacidad de subsistir a base del líquido vegetal, tal como lo hace el guanaco, así que no solamente escogen plantas suculentas, sino que también tienen que beber agua diariamente. Además, tienen el hábito de bañarse en los riachuelos, sumergiéndose hasta la quijada (Koford, 1957). Según el estudio de Jurgens *et al.* (1988), la vicuña, por sus características sanguíneas y las de su sistema cardiovascular, es el animal mejor adaptado a las grandes alturas en comparación a los otros CSA.

2.1.1.5. Estructura social

La estructura social de la vicuña está caracterizada por la existencia de grupos familiares poligínicos, tropillas de solteros y machos solitarios (Franklin, 1978, 1982; Vilá, 2000). En Pampa Galeras, Franklin (1978, 1982) encontró que el 76 % de la población vivía en grupos familiares compuestos de un macho adulto dominante y 3 a 6 hembras con sus crías del año. El tamaño medio de las familias es muy estable en comparaciones entre poblaciones y en las dos subespecies (un macho, de tres a cuatro hembras y dos o tres crías) (Vilá, 2000). El macho se establece y mantiene un territorio permanente a lo largo de su vida reproductiva. Este territorio normalmente contiene un dormidero en el sector más alto, un territorio de alimentación ubicado en una elevación más baja, y una fuente de agua. Los límites territoriales están demarcados por estercoleros que sirven para la orientación de los miembros del grupo familiar, y además como puntos desde los cuales el macho dominante amenaza a las vicuñas extrañas y mediante una defecación “ritual” logra reforzar éstos límites (Franklin, 1982). La integridad del territorio se mantiene durante la vida reproductiva del macho dominante, sin embargo, los límites son más flexibles en los grupos ubicados en las zonas de recursos marginales. Durante la extrema crisis poblacional observada en Pampa Galeras a partir del año 1979, muchos machos dominantes abandonaron sus territorios, doblando el número de hembras por grupo familiar y reduciendo de 13 a 8,9 la densidad de grupos familiares por Km² (Franklin, 1982).

Los machos dominantes controlan el tamaño del grupo familiar, defendiendo sus territorios contra toda vicuña extraña a su grupo, y expulsando a sus propias crías machos y hembras cuando llegan a los 6 a 9 meses y 10 a 11 meses de edad respectivamente. Esta expulsión ocurre antes de inicio de la temporada de parición, en febrero. Los machos excluidos se juntan a tropillas no territoriales compuestas de 22 animales en promedio, y las hembras se unen a otros grupos familiares. Algunos machos eventualmente se separan de las tropillas y viven solitarios hasta establecer su propio territorio (Franklin, 1982).

2.1.1.6. Reproducción

El período de gestación de la vicuña varía entre 330 y 350 días. En nuestro país la temporada de parición comienza durante la segunda quincena de febrero y termina la primera semana de abril, con la mayoría de nacimientos en marzo (Koford, 1957; Franklin, 1982), mientras que el pico de nacimientos en la poblaciones sureñas es durante el mes de febrero (Vilá, 2000). Las crías siempre nacen durante la mañana, con un peso promedio correspondiente al 15 % del peso vivo de la madre (Hofmann *et al.*, 1983), que suele ser de 4 a 6 Kg (Franklin, 1982). El empadre, o acción de apareamiento, ocurre unas semanas después de la parición. Algunas vicuñas están listas para el empadre a partir del año de edad, pero la mayoría entran a los dos años y producen su primera cría a los tres años. Las tasas de preñez, determinadas en base a observación externa del último mes de gestación, en Pampa Galeras antes de la crisis poblacional, fueron de 85% a 95 %, y de 58 %, después de la crisis (Franklin, 1982). Tasas de preñez de 99 % determinadas por palpación rectal, han sido registradas en una población de vicuñas de Puno (Novoa, 1989) y tasas de preñez del 79 % en vicuñas de Chile, determinadas mediante ultrasonografía transrectal (Parraguez y Raggi, 2008).

2.1.2. Conservación

2.1.2.1. Importancia histórica, social y económica de la vicuña

La vicuña, a diferencia de los CSA domésticos, no tuvo un uso masivo y estuvo restringida a prácticas rituales. Esta regulación fue muy estricta durante el Imperio Inca, en el que se perfeccionó una forma de captura de animales que ya existía mucho antes de la formación del Imperio. Esta forma de captura conocida como *chaccu* (Fig. 4), consistió en el arreo de vicuñas hacia el fondo de quebradas o laderas de cerros en los que se construían corrales de piedra con el fin de capturar muchos animales con un mínimo daño. En esta técnica de manejo ancestral de animales participaban numerosas personas dirigidas por individuos altamente especializados. Luego de la captura, los animales eran esquilados, unos pocos se sacrificaban con fines rituales y el resto era liberado para ser utilizado posteriormente (Hurtado de Mendoza, 1987).

La práctica del *chaccu* implica un conocimiento ideológico que favorecía la conservación y el uso sostenible de los recursos que proporcionaba la vicuña. Su fibra sólo podía servir para cierto tipo de prendas de vestir como el *llauto*, o faja para usar como semi-turbante por las autoridades locales e imperiales, o para cierta ropa de los caciques (Hurtado de Mendoza, 1987). Hoy en día, al igual que en el pasado, se prefiere la fibra de vicuña para tejer mantos de tejido fino que se utilizan para cumplir ritos específicos de índole mágico-religioso, cuya finalidad era, y es, asegurar el éxito de las actividades de pastoreo en las zonas alto andinas (Flores Ochoa, 1977).

2.1.2.2. Amenazas

Con la llegada de los españoles y la consecuente desarticulación del Imperio Incaico, no hubo una autoridad central capaz y dispuesta a hacer

cumplir estrictas medidas de conservación. Durante tres centurias de dominio colonial la caza redujo a tal extremo la población de vicuñas que el libertador Simón Bolívar actuó prohibiendo tal actividad tan pronto como el Perú obtuvo su independencia de España, en 1825, pero su Decreto resultó ser inaplicable. Para mediados del siglo XX, quedaban menos de 10000 vicuñas de una población estimada en dos millones cuando los españoles llegaron a los Andes (Torres, 1992).

Las medidas efectivas de protección tomadas por algunos países en favor de la conservación de la vicuña han resultado en un notable aumento de la población de la especie. Actualmente la población total de vicuñas está alrededor de los 350000 individuos en toda su área de distribución (Lichtenstein *et al.*, 2008). El Perú es el país que cuenta con la mayor población. Se estima que en nuestro país viven alrededor de 190000 vicuñas, lo que representa más del 54 % de la población total de la especie (Zuñiga, 2004; Lichtenstein *et al.*, 2008). Cifras aproximadas de censos de vicuñas por países son presentadas en la Tabla 1.

Sin embargo, aunque haya un notable crecimiento poblacional, la conservación de la especie en el largo plazo no será posible si no se entregan los beneficios tangibles a las comunidades locales en cuyas tierras habita la vicuña. Las condiciones ambientales ya no son las mismas que existían en el pasado. El aumento de la población de la especie y sus necesidades de pasturas han traído como consecuencia una creciente competencia con la crianza de llamas y alpacas que son la sustentación económica de los campesinos de origen quechua y aymara (Torres, 1992; Parraguez y Raggi, 2008).

En la actualidad, la caza ilegal y furtiva de la vicuña se ha intensificado en el Perú y Bolivia, sobrepasando la capacidad de las autoridades para controlarla (Fig. 5). A esto debe agregarse la existencia de actividades guerrilleras o terroristas que dificultan la labor de las autoridades (Torres, 1992).

Tabla 1. Tamaño poblacional de vicuñas al 2008, según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN). Los números son aproximados ya que las poblaciones han sido censadas mediante diferentes metodologías. Fuente: Lichtenstein *et al.* (2008).

País	Población de vicuñas (en número de individuos)
Perú	188,327
Argentina	72,678
Bolivia	62,289
Chile	16,942
Ecuador	2,683
Total	347,273



Figura 4. *Chaccu* de vicuñas en la Reserva Nacional Pampa Galeras, Ayacucho. Los animales se encuentran dentro del corral donde serán esquilados.
Foto: C. Enrique Michaud.



Figura 5. Cacería furtiva de vicuñas en el Perú. Alrededor de 55 vicuñas son muertas por cazadores furtivos en la provincia de Huancabamba, Apurímac. 16 de Febrero de 2009.
Foto: Associated Press (AP), Fuente: El Comercio (2009).

Otro serio factor limitante para lograr una adecuada conservación de la vicuña en el largo plazo es la reducida existencia de recursos financieros disponibles para su conservación en la mayoría de países Andinos. Esta limitante permanecerá a lo largo del tiempo debido a la aguda crisis económica y social existente en estos países (Torres, 1992).

2.1.2.3. Utilización

La utilización sustentable de la vicuña, con una bien definida participación local, puede complementar las economías locales por medio de la transformación de la fibra en telares de la más alta calidad a nivel mundial. Junto a ello, las pieles, los cueros y la carne también serían económicamente valiosos para las comunidades locales. De no existir una razón o necesidad para proteger a la especie, las comunidades locales no participan efectivamente en las acciones de protección de la vicuña. Si por el contrario, la utilización sustentable de la especie les entrega claros beneficios, las propias comunidades participarán con energía en la protección de la especie, lográndose de ese modo su conservación en el largo plazo (Torres, 1992; Stølen *et al.*, 2009).

Aunque Perú y Chile han alcanzado una población viable de vicuñas, la utilización de la especie a nivel industrial aún no ha comenzado. Actualmente se efectúan diversos experimentos en técnicas de captura, esquila y liberación de individuos, con el fin de mejorar sus resultados, en términos de aprovechamiento de la fibra y bienestar de los animales (Michaud *et al.*, 2006). A esto se suma el buen conocimiento en la transformación de la fibra en telares de buena calidad y valor comercial, que se ha logrado en el Perú y Chile, y que ya están siendo exportados hacia Europa principalmente, sin embargo aún el grueso de la producción es vendida como materia prima. Se espera que en un futuro próximo, ambos países comiencen el comercio internacional masivo de productos de valor agregado de fibra de vicuña (Torres, 1992).

2.1.2.4. Estado actual de conservación

La Convención para el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Flora y Fauna (Washington, 3 de Marzo de 1973), conocida como CITES, ha sido ratificada por todos los países que poseen vicuñas. La CITES ubica a la vicuña en el Apéndice I, prohibiendo el comercio internacional de la especie. Sin embargo, de manera reciente, la CITES ha autorizado la ubicación en el Apéndice II a algunas poblaciones de Argentina (Provincias de Jujuy, Catamarca y Salta), Chile (Primera Región), y la totalidad de poblaciones de Bolivia y el Perú, bajo la condición específica de comercio de fibra o telares de vicuñas esquiladas vivas (CITES, 2009).

Según la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), la vicuña se encuentra categorizada como Menor Preocupación (Least Concern, LC), o sea, una especie amenazada en bajo riesgo y dependiente de conservación (Lichtenstein *et al.*, 2008). Asimismo la FAO considera a la vicuña como una de las 7 especies claves para el desarrollo rural de América Latina (Vilá, 1999), siendo su conservación y manejo racional, claves para su preservación.

A nivel regional se ha establecido legislación especial regulando o prohibiendo la caza, posesión y comercio de la vicuña en todos los países andinos. Se firmó el Convenio para la Conservación y Manejo de la Vicuña en 1979 en Lima. Este convenio fue suscrito por Argentina, Bolivia, Chile, Ecuador y Perú, e incorpora los conceptos de protección, conservación y utilización sustentable. Ecuador firmó el Convenio en aquel año, basándose en informes históricos del siglo pasado que registran la existencia de alguna forma de CSA (Torres, 1992).

En el Perú, el Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENA) coloca a la vicuña en la categoría de Casi Amenazado (NT), según el Decreto Supremo N° 034-2004-AG, el cual categoriza las especies amenazadas de fauna silvestre en nuestro país (INRENA, 2009).

2.1.2.5. Necesidades de conservación

Como en muchos casos, a pesar de la degradación ambiental humana, la experiencia demuestra que existiendo una mínima población viable en su hábitat, muchos ecosistemas son capaces de recuperarse notablemente si se les proveen las condiciones y oportunidades favorables para su recuperación (Torres, 1992). En este contexto, la supervivencia de la vicuña dependerá de lo siguiente:

1. Lograr una adecuada protección y manejo de los hábitats naturales en áreas de conservación, incluyendo parques y reservas nacionales y las recientes áreas de conservación privadas (Solano *et al.*, 2007).
2. Desarrollar diferentes formas de uso de tierra que permitan la coexistencia en armonía de las comunidades campesinas con las poblaciones de vicuña.
3. La existencia de una conciencia pública de la necesidad y valor de la conservación de las especies, incluyendo los esquemas de utilización sustentables de ellas a nivel local, permitiendo a las comunidades rurales beneficiarse materialmente de la conservación, y
4. Desarrollar capacidades para la investigación sobre la vicuña, en los aspectos biológicos, genéticos y fisiológicos, que permitan conocer en profundidad a la especie y que brinden herramientas alternativas de conservación (Enciso, 2009).

Las tres primeras opciones de conservación anteriormente citadas son dependientes del manejo del ambiente y de las decisiones políticas relacionadas al uso sustentable y la interacción con las comunidades envueltas con el recurso vicuña. En el caso de la cuarta opción, una alternativa viable que debe ser tomada en cuenta es el uso de la reproducción asistida como herramienta para el aumento de la población y la conservación del germoplasma de la especie.

2.2. Reproducción y conservación

La habilidad de reproducirse es esencial para la supervivencia de las especies, de esta manera las ciencias reproductivas son extremadamente importantes para la conservación de las especies e indirectamente, para la supervivencia de los ecosistemas. Lamentablemente, el público en general, las instituciones académicas y la misma comunidad que trabaja con fauna silvestre comprende pobremente la definición o el propósito de este campo. Históricamente las ciencias reproductivas comprendían especialistas en comportamiento, endocrinólogos y fisiólogos reproductivos, sin embargo ahora deberían incluir cualquier área de estudio que contribuya al mantenimiento o recreación de una nueva población reproductivamente adecuada (p. ej. genética, biología demográfica, medicina veterinaria, nutrición, crianza en cautiverio, etc.). También es claro que los componentes de alta tecnología de las ciencias reproductivas no son una “solución inmediata” para incrementar la tasa reproductiva (en el caso de especies en peligro) o para el control de la fertilidad (en el caso de sobrepoblación). Más bien, el papel primario de las ciencias reproductivas es caracterizar las diferencias de los mecanismos reproductivos, regulando su éxito entre las especies (inclusive dentro de la misma familia) a través de estudios rigurosos y sistemáticos (Wildt *et al.*, 2002).

Las biotecnologías reproductivas (colección y criopreservación de semen, inseminación artificial, transferencia de embriones, etc.), han aportado soluciones alternativas para facilitar el manejo genético de poblaciones de especies en peligro mediante el desarrollo de los Bancos de Recursos Genómicos (BRG's) (Holt *et al.*, 1996; Wildt *et al.*, 1997; Wildt y Wemmer, 1999). Los BRG's permiten el almacenamiento de semen, ovocitos y embriones congelados, además de otros tejidos. La ventaja principal de dichos bancos es que permiten mantener la variabilidad genética de una especie en forma casi indefinida. Así pues, el semen de los machos que se almacena en estos bancos se puede utilizar durante muchos años después de la muerte del animal. La existencia de un BRG reduce considerablemente el número de individuos vivos que se necesitan para mantener una población viable, por lo

que se reduce la necesidad de espacio físico requerido para recuperar una especie, lo que lleva a disminuir los costos, y ampliar el número de especies que se pueden beneficiar de dichos programas (Gomendio *et al.*, 2006).

La principal dificultad de crear un BRG radica en la necesidad de conocer en profundidad la reproducción de la especie en cuestión. Puesto que a lo largo de la evolución las especies han divergido principalmente en los aspectos reproductivos, las diferencias entre especies en comportamiento y fisiología reproductiva son mucho mayores que en otros niveles. Por ello, la reproducción de cada especie presenta muchas características específicas, que limitan la aplicación de conocimientos procedentes de especies filogenéticamente cercanas. Los intentos llevados a cabo hasta la fecha han demostrado hasta qué punto las técnicas de reproducción asistida y los protocolos de criopreservación varían de una especie a otra. Dicha variabilidad entre especies dificulta a veces las primeras acciones, precisamente cuando la situación de una especie se considera límite (Gomendio *et al.*, 2006). El primer paso para el establecimiento de un BRG es el desarrollo de protocolos de colección de semen, mediante los cuales se puedan obtener espermatozoides adecuados para ser criopreservados. En ese sentido, es necesario conocer la fisiología reproductiva básica del macho, antes de proceder a la implementación de las biotecnologías reproductivas para la formación de un BRG.

2.2.1. Fisiología reproductiva en el macho

2.2.1.1. Espermatogénesis

La espermatogénesis es un proceso de diferenciación celular en el cual las espermatogonias, a través de varias divisiones meióticas y transformaciones citológicas, dan origen a las espermátides maduras (Mann y Lutwak-Mann, 1981).

Las primeras células germinativas del testículo adulto son las espermatogonias, que están localizadas en la membrana basal del epitelio seminífero. Después de varias mitosis dan origen a los espermatocitos, que son células que entran en meiosis. El proceso de meiosis comprende dos divisiones. Las células antes de la primera división son los espermatocitos primarios, luego de ésta se convierten en espermatocitos secundarios. Las dos divisiones de cada espermatocito resultan en 4 células haploides, que son las espermatídes. Las espermatídes se van a diferenciar en espermatozoides a través del proceso denominado espermiogénesis. (Mann y Lutwak-Mann, 1981; Guraya, 1987).

Según Sharpe (1994), el proceso de espermatogénesis bovina posee 13 tipos celulares, que son los siguientes: A₀, A₁, A₂, A₃, intermedio, B₁, B₂, preleptoteno, leptoteno, zigoteno, espermatocito primario, espermatocito secundario y espermatíde. La diferenciación de las células germinativas, hasta su forma final, es clasificada en estadios de acuerdo a su movilidad progresiva a través de las diferentes capas del epitelio seminífero; de esta manera Berndtson y Desjardins (1974) dividieron el ciclo del epitelio seminífero en 12 estadios para bovinos. En el caso de los ovinos el proceso de diferenciación de los espermatídes fue clasificado en 15 pasos, los cuales están divididos en 4 fases: Golgi (pasos 1 al 3), fase de encapsulamiento (pasos 4 al 7), fase acrosómica (pasos 8 al 12) y fase de maduración (pasos 13 al 15). Para el caso de los humanos, las fases acrosómicas y de maduración envuelven los pasos 8 al 12 (Clermont y Leblond, 1955). Durante la espermiogénesis son observadas tres grandes alteraciones: a) condensación del núcleo, b) formación del acrosoma, y c) desarrollo del flagelo (Guraya, 1987).

2.2.1.2. Mecanismo de eyaculación

La eyaculación del semen resulta de la estimulación nerviosa que origina contracciones musculares, comenzando en el vaso eferente, pasando por el epidídimo, vaso deferente y glándulas accesorias (Salisbury y van Demark,

1961). En el hombre el proceso es precedido por la erección del pene, y continuando por la emisión de semen de la uretra, la formación de la cámara de presión en la uretra, próxima a la vejiga, y expulsión del semen a través de la uretra (Martin, 1978).

La emisión es el resultado de la contracción de los músculos lisos de la pared de la cola del epidídimo, conducto deferente, ámpula, glándulas vesiculares, próstata y posiblemente, las glándulas bulbouretrales, con liberación de líquido seminal y semen en la uretra (McDonnell, 1992). Simultáneamente, el esfínter de la vejiga se cierra para prevenir la eyaculación retrógrada del fluido seminal en la vejiga (Benson, 1994). La eyaculación propiamente dicha es el resultado de contracciones rítmicas de los músculos estriados del cuerpo cavernoso, bulbo esponjoso y otros músculos pélvicos. Simultáneamente existe una contracción rítmica del esfínter anal (McDonnell, 1992).

El vaso deferente, el esfínter de la vejiga, la próstata, las vesículas seminales y el pene son estimulados por fibras nerviosas simpáticas provenientes del plexo nervioso pélvico, que está localizado retroperitonealmente al lado del recto (T₁₀-L₂). Por otro lado, la musculatura estriada perineal (incluyendo los músculos isqueocavernoso y bulbocavernoso) reciben innervación somática a través del nervio pudendo, proveniente de la región del sacro (S₂₋₄) (Benson, 1994). Dichos sistemas nerviosos son representados en la Fig. 6.

La micción envuelve innervación semejante al proceso de eyaculación y la contaminación del semen por orina es el problema técnico más común durante la electroeyaculación (Martin, 1978), técnica que será descrita más adelante. La orina parece ser más problemática en el caso de colección de semen en camélidos y felinos (Seager y Platz, 1976; Tibary y Vaughan, 2006), probablemente por la menor separación anatómica de las innervaciones controladoras de la eyaculación y micción en estas familias de mamíferos (Watson, 1978).

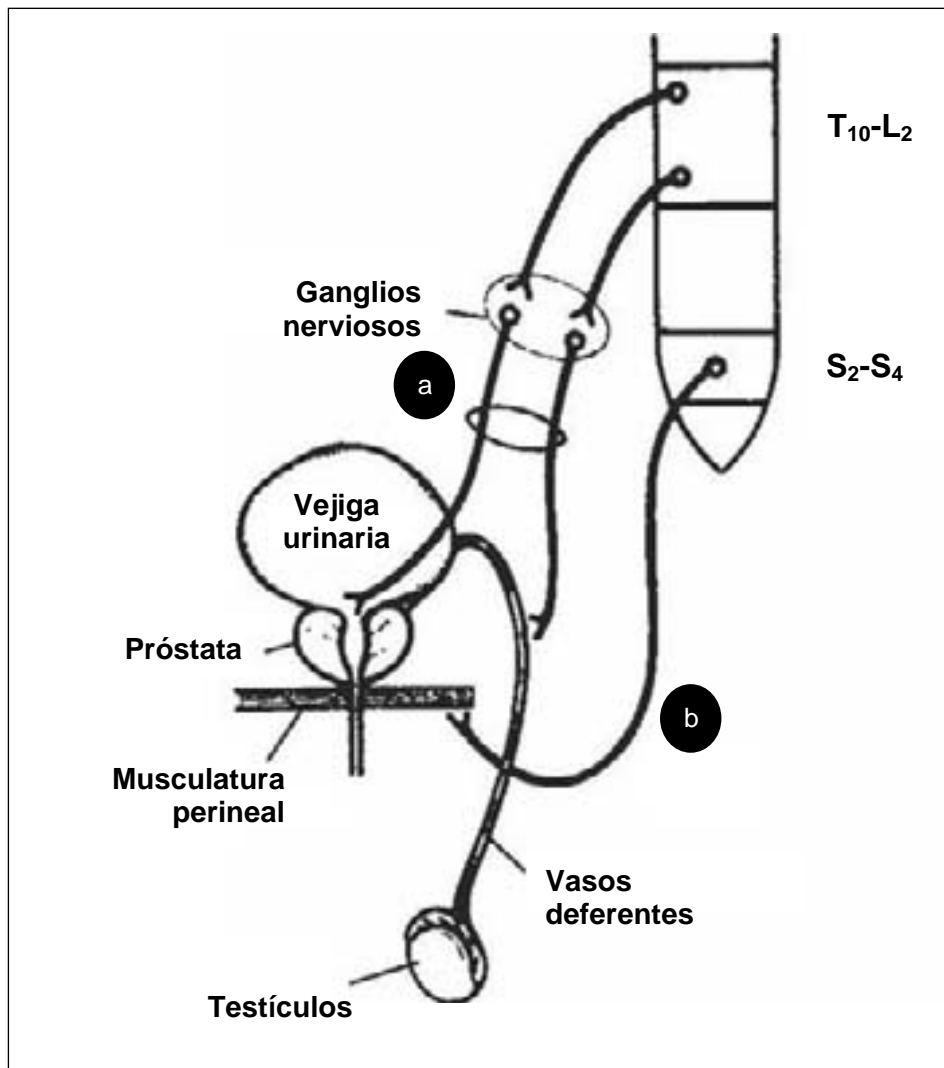


Figura 6. Sistema nervioso relacionado al mecanismo de eyaculación. a). Inervación simpática para el cuello de la vejiga y los vasos deferentes, b). Inervación somática de los músculos estriados perineales. Durante la emisión seminal la activación simpática causa que el músculo liso del conducto deferente se contraiga, el cuello de la vejiga se contraiga y el músculo liso de la pared de la vejiga se relaje. Esto previene el pasaje retrógrado del semen dentro de la vejiga urinaria. Fuente: Bhasin y Benson (2006).

2.2.2. Técnicas andrológicas

Las técnicas andrológicas incluyen la evaluación y biometría testicular y la posterior obtención de los gametos, en este caso, la colección y evaluación del semen. Con respecto a la colección del semen, existen diferentes métodos de obtención del eyaculado en especies domésticas y silvestres: recolección post cópula, vagina artificial, masturbación y estimulación manual, estimulación vibratoria y electroeyaculación (Watson, 1978; Schneiders *et al.*, 2004). Este último método será en descrito en extenso más adelante.

2.2.2.1. Evaluación genital y biometría testicular

La evaluación genital comprende la inspección, palpación y medición de los diferentes órganos y componentes del aparato genital, tomando en cuenta: su presencia, desarrollo correspondiente a la madurez sexual, y analizando para cada uno de ellos, y donde correspondiese, forma, tamaño, simetría, posición, consistencia, movilidad y sensibilidad. Ésta evaluación incluye: escroto, testículos, epidídimo, cordones espermáticos, prepucio y pene (Rutter y Russo, 2006).

Desde hace mucho tiempo la biometría testicular ha sido objeto de investigación como medida predictiva de la producción espermática en bovinos y otros animales domésticos. En el caso de los animales silvestres son pocas las informaciones de estudios de correlación de la biometría testicular versus producción espermática. En un estudio realizado en gacelas (*Gazella dorcas*) fue observada una correlación positiva entre la concentración espermática, volumen testicular y peso corporal, sin embargo, no existió correlación entre la calidad espermática, volumen testicular y niveles séricos de testosterona (Howard *et al.*, 1983). Del mismo modo, Johnston *et al.* (1994), describieron la relación directa del volumen testicular, concentración espermática, motilidad espermática y volumen eyaculado con la testosterona sérica en el leopardo de

las nieves (*Uncia uncia*). Además de eso, observaron una relación directa de la hormona LH con el volumen testicular y motilidad espermática. Por otro lado, Swanson *et al.* (1996) no observaron correlación entre el volumen testicular y la producción espermática en gato de Pallas (*Felis manul*).

2.2.2.2. Electroeyaculación

El primer experimento sistemático con la electroeyaculación fue realizado en el año 1922 por Batelli. Este utilizaba la combinación de dos electrodos en la boca y en la base del cráneo de cuyes. Se obtenían muestras de semen, sin embargo las respuestas eran difusas, ocurriendo muchas veces la muerte de los animales por electrocución (Martin, 1978). En el año 1936 Gunn relata la electroeyaculación en carneros con un electrodo en los músculos lumbares y el otro en el recto, siendo éste el primer reporte en animales domésticos (Marden, 1954). En 1945 Laplaud y Cassau utilizaron un electrodo rectal bipolar en toros, lo que permitió estimulación sin el uso del electrodo de los músculos lumbares (Marden, 1954; Healey y Sadleir, 1966). Luego Marden (1954) utilizó transductores rectales con cuatro tiras longitudinales para obtener semen en toros (Fig. 7). Luego se obtuvieron mejores resultados con el electrodo modificado, que disponía de seis anillos conductores separados (Dziuk *et al.*, 1954). Posteriormente Rowson y Murdoch (1954) desarrollaron un electrodo de cobre con la forma de anillos para el dedo, usado con guantes de jebe. Éstos hacían presión en la ámpula, siendo el resultado extremadamente satisfactorio y con pocas reacciones adversas. Utilizando la misma metodología Dowling (1961) obtuvo resultados semejantes.

La electroeyaculación es de particular relevancia en la colección de semen de animales en los cuales es imposible de utilizar vaginas artificiales o estimulación manual, habiendo de resaltar que en la gran mayoría de los casos la técnica de electroeyaculación debe ser utilizada en animales anestesiados (Watson, 1978). De esta manera, puede ser fácilmente adaptada en animales silvestres.

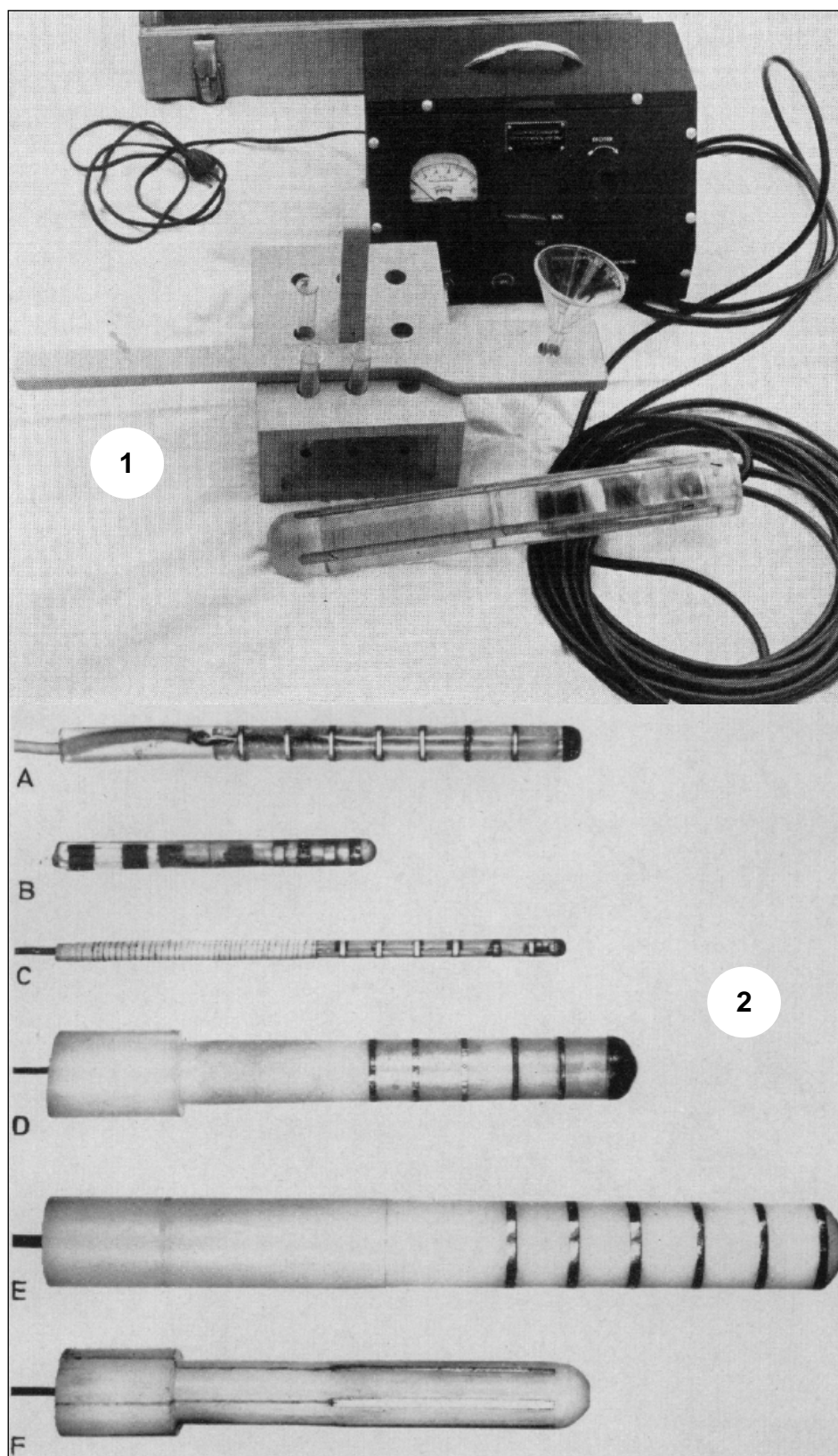


Figura 7. Los primeros equipos de electroeyaculación. 1. Electroeyaculador para toro y accesorios. 2. Diferentes tamaños y diseños de los transductores rectales. Dimensiones: longitud x diámetro (en mm). A: 205x21,5, B: 60x16,0, C: 130x10,5, D: 155x37,0, E: 200x49,0 y F: 150x39,0. Fuente: Marden (1954) y Healey y Sadleir (1966).

La primera electroeyaculación en una especie silvestre fue realizada por Mastroianni y Manson (1963), quienes utilizaron primates no humanos, obteniendo eyaculado luego de la estimulación en la base del pene y la región del frenillo peneano. Posteriormente muchos investigadores se han dedicado a perfeccionar la metodología, hasta pasar a utilizar el transductor rectal bipolar con bastante eficiencia (Morato *et al.*, 1998).

Fernández Baca y Calderón (1966) realizaron estudios de colección de semen en CSA a través de electroeyaculación utilizando un transductor rectal construido en fibra de vidrio y compuesto por un anillo y una punta de acero cromado. Se obtuvo cantidades variables de semen, y, en la mayoría de los casos, contaminación con orina. Posteriormente Calderón *et al.* (1968) obtuvieron mejores resultados en CSA, utilizando un transductor rectal bipolar con dos anillos metálicos, aun considerando la gran variabilidad de respuestas en los animales. En ambos casos el procedimiento de electroeyaculación fue realizado con animales sometidos únicamente a una contención física.

El transductor rectal utilizado que cuenta con mayor eficiencia es el dotado con tres electrodos ventrales, estando los dos laterales interconectados y el central conectado separadamente (Seager y Platz 1976; Platz y Seager 1978). La posición del electrodo, su tamaño y su forma son esenciales para la obtención de los eyaculados (Martin, 1978), y varía de acuerdo con la anatomía de la especie en cuestión. El estimulador eléctrico opera en corriente alterna (Dziuk *et al.*, 1954; Marden, 1954; Dowling, 1961; Platz y Seager, 1978; Martin, 1978), y posee controladores de amperaje y/o voltaje con fusibles instalados en línea para la protección del animal y del operador (Platz y Seager, 1978). El rango de voltajes aplicado a las diferentes especies animales estudiadas va desde los 5 a los 45V. En términos de eficacia de los estímulos y la seguridad del animal, el flujo de corriente es otro parámetro importante (Martin, 1978). Según Rock (1976), corrientes por encima de los 100 microamperios (mA) pueden ser potencialmente riesgosas para la vida del animal.

La aplicación de los estímulos eléctricos consiste en el giro lento de la llave operadora, partiendo de 0V, para el voltaje pico y un mantenimiento de 3 segundos con un retorno rápido a 0V (Platz y Seager, 1978; Platz *et al.*, 1983).

La extensión de los miembros posteriores con exposición de las uñas (en las especies que las tienen retraídas) y una leve abducción de los miembros anteriores, son los indicadores físicos para la determinación del pico de voltaje y posición del electrodo (Platz *et al.*, 1983). Wildt *et al.* (1983) estandarizaron el protocolo de electroeyaculación, adoptando 3 series de estímulos. La primera serie consiste en 10 estímulos de 2V, 10 de 3V y 10 de 4V. La segunda serie consiste de 10 estímulos de 3V, 10 de 4V y 10 de 5V. La tercera serie está conformada por 10 estímulos de 5V y 10 de 6V, haciendo un total de 80 estímulos eléctricos.

La contaminación con orina puede ocurrir cuando el voltaje máximo necesario es excedido o cuando el transductor rectal es posicionado más cranealmente (Scott y Dziuk, 1959; Martin, 1978; Howard, 1993). La utilización de drogas como la acepromacina en la anestesia también puede causar contaminación del eyaculado con orina (Platz *et al.*, 1976). En muchas especies la contaminación del semen con orina es bastante problemática (Seager y Platz, 1976), lo que sugiere que hay poca separación anatómica entre las fibras nerviosas que controlan la micción y la eyaculación, y/o las fibras nerviosas pueden tener origen similar (Watson, 1978).

El uso de anestesia para la electroeyaculación fue probado por primera vez por Platz *et al.* (1976) en gatos domésticos, quien utilizó la asociación ketamina-acepromacina y tiletamina-zolazepam, obteniendo excelentes resultados, eliminando el estrés en el animal y los riesgos de accidentes con los operarios.

2.2.2.3. Colecta y evaluación espermática

La colecta de las muestras obtenidas por electroeyaculación debe recibir especial atención en la medida en que la forma de manipulación del semen ejerce influencia sobre la calidad del material a ser conservado (Salisbury y van Demark, 1961). Los recipientes de colecta deben proteger el semen del shock

térmico y ser fáciles de manipular, para que las varias fracciones del eyaculado puedan ser colectadas, o descartadas, en el caso que haya contaminación por orina (Martin, 1978). Por ejemplo, Howard (1993) sugiere el pre-calentamiento de los recipientes de colecta a 37°C para evitar el shock térmico. Del mismo modo, Furman *et al.* (1975) indica el uso de recipientes plásticos estériles, pues éstos evitarán posibles contaminaciones e injurias a los animales en estudio.

Las muestras debidamente colectadas son evaluadas con el objetivo de caracterizar cuantitativa y cualitativamente el semen obtenido (Mann y Lutwak-Mann, 1981). Existen muchos criterios de evaluación del semen, por tal motivo varios autores utilizan la combinación de algunos criterios que permiten resultados confiables en cuanto a las características del semen en estudio: apariencia (color, consistencia, aspecto, etc.), volumen, pH, motilidad, concentración y morfología espermática (Salisbury y van Demark, 1961; Seager y Platz, 1976; Platz *et al.*, 1976; Platz y Seager, 1978; Martin, 1978; Mann y Lutwak-Mann, 1981; Platz *et al.*, 1983; Wildt *et al.*, 1983; Howard, 1993; Swanson *et al.*, 1996; Ax *et al.*, 2002; Giuliano *et al.*, 2008).

El primer criterio de evaluación es el examen de la apariencia del semen, observándose principalmente color y aspecto. El semen se puede presentar en gel (como la mayoría de los mamíferos) o coagulado (primates) (Weisbroth y Young, 1965; Mann y Lutwak-Mann, 1981). En el caso de patologías de los órganos accesorios o testículos, se pueden observar alteraciones en la coloración (Mann y Lutwak-Mann, 1981).

El registro del volumen eyaculado es extremadamente útil para la realización de diluciones, además de proporcionar informaciones en cuando a la producción de semen. Autores señalan que existe correlación positiva entre el volumen eyaculado y la fertilidad (Salisbury y van Demark, 1961). El pH caracteriza la capacidad tampón del eyaculado y normalmente varía de neutro (pH 7,0) a levemente ácido (pH 6,75). Alteraciones del pH pueden indicar contaminación del semen, como por ejemplo, orina (pH ácido) y bacterias (pH básico) (Salisbury y van Demark, 1961; Seager y Platz, 1976).

El parámetro de motilidad espermática es uno de los más importantes a ser tomado y se refiere a la observación de alguna forma de movimiento. Los valores de motilidad son expresados en porcentaje con variación de 0 a 100 %, siendo 0 el valor para espermatozoides inmóviles y 100 para la máxima performance (Howard, 1993). En el caso de los CSA se debe tener en cuenta que la motilidad es de tipo no progresiva, debido a la viscosidad del fluido seminal (Bravo *et al.*, 1997b). En cuanto a la morfología espermática, ésta busca caracterizar el espermatozoide normal y clasificar las formas anormales. Las formas anormales del semen están divididas en primarias y secundarias. De manera general, algunas anomalías espermáticas son originadas durante la espermatogénesis, teniendo como principales causas factores genéticos, nutricionales y ambientales. Otras anomalías se originan durante la maduración en el epidídimo, transporte, y shock con el medio exterior. Sin embargo, las principales causas están relacionadas al aumento de temperatura en el epidídimo y a la mala manipulación del eyaculado colectado (Barth y Oko, 1989; Ax *et al.*, 2002). Mann y Lutwak-Mann (1981) sugieren que una elevada incidencia de espermatozoides anormales es indicativo de disminución en la fertilidad.

2.3. Contención química

En los últimos años las técnicas de contención física y química de animales silvestres han evolucionado significativamente, permitiendo el avance paralelo de investigaciones en las especies de interés (Wildt, 1989). Según Fowler (1978), se deben tener en cuenta cuatro factores para la selección de la técnica de contención: 1. Ser segura para el equipo de trabajo que manejará al animal, 2. Ofrecer la máxima seguridad para el animal, 3. Permitir el acompañamiento seguro del animal durante los procedimientos que se desean realizar, y 4. Permitir la observación segura hasta la recuperación total del animal. Se debe tener en cuenta también que el conocimiento de las características psicológicas

y de comportamiento de la especie garantizará contenciones más tranquilas y seguras (Kreeger y Arnemo, 2007).

Las técnicas de contención son clasificadas como: a) Física, cuando el animal es inmovilizado a través del uso de redes, guantes u otros equipos, y b) Química ó farmacológica, cuando son utilizadas drogas (Novaes, 1990). El uso de jaulas de contención y el lanzamiento de dardos son las formas más usadas para la aplicación de drogas anestésicas en animales silvestres, siendo los dardos los más rápidos y eficientes. Asimismo, la droga se elige de acuerdo con el procedimiento a realizar.

Las llamas y las alpacas generalmente se recuperan bien luego de la anestesia general, por consiguiente la premedicación no es obligatoria (Riebold *et al.*, 1989). Sin embargo, se aconseja la sedación si se va a tratar con animales silvestres como la vicuña. La inducción anestésica se lleva a cabo con drogas inyectables, como propofol, tiopental o ketamina o con drogas para anestesia inhalatoria. La administración de xilacina o xilacina y ketamina ha sido descrita extensamente en alpacas y llamas (Gavier *et al.*, 1988; Fowler, 1989). Estas drogas solas ofrecen un efecto desde sedación hasta anestesia de corta duración, sin embargo, el grado (nivel de sedación o anestesia) y duración (de 10 a 60 minutos) es variable (Mama, 2008). En la Tabla 2 se presentan las dosis de estos fármacos para CSA.

La ketamina no provee relajación muscular, en tal sentido los reflejos laríngeo-faríngeos son mantenidos generalmente después de la inducción. Este efecto en particular minimiza el riesgo de aspiración accidental del contenido ruminal. Sin embargo, cuando la ketamina es usada sola, dificulta el entubamiento endotraqueal si fuese requerido (Fowler, 1989; Garcia Pereira *et al.*, 2006). El midazolam y el diazepam son utilizados en combinación con ketamina para la inducción anestésica. Estas drogas causan relajación muscular y tranquilización suave, la cual mejora la calidad de inducción con ketamina y algunas otras drogas como el propofol, además de contribuir en la reducción de la dosis de anestésico necesario para la inducción (Fowler, 1998; Fahmy *et al.*, 1995).

Tabla 2. Dosis de ketamina, xilacina y asociaciones para la inducción y mantenimiento de CSA adultos.

Droga o asociación de drogas	Dosis (mg Kg ⁻¹) y ruta de administración	Inicio del efecto	Duración del efecto anestésico	Tiempo de recuperación de la anestesia	Referencia
Xilacina	0,1 - 0,4 IM, IV	-	-	-	Fowler, (2007)
Ketamina	2,5 - 5,0 IV	-	-	-	Garcia Pereira <i>et al.</i> (2006)
Xilacina + Ketamina	0,1 - 0,2 (x) IM; 2,0 - 3,0 (k) IM	5 - 10 min	10 - 20 min	45 min - 2 h	Mama (2007)
Xilacina + Ketamina	0,25 - 0,5 (x) IM; 2,0 - 5,0 (k) IM	-	-	-	Fowler (2007)
Ketamina + Diazepam	5,0 - 6,0 (k) IV; 0,2 - 0,3 (d) IV	2 min después de la ketamina	10 - 20 min	45 min - 2 h	Nunes <i>et al.</i> (2007)
Ketamina + Diazepam	3,0 - 8,0 (k) IM; 0,1 - 0,3 (d) IM	-	-	-	Fowler (2007)
Ketamina + Midazolam	2,0 - 5,0 (k) IM; 0,2 - 1,0 (m) IM	-	-	-	Garcia Pereira <i>et al.</i> (2006)
Ketamina + Xilacina + Diazepam	1,0 - 2,0 (k) IV; 0,1 - 0,2 (x) IM; 0,1 - 0,25 (d) IV	1 min después de la ketamina	10 - 20 min	45 min - 2 h	Mama (2007)

IM: Intramuscular
IV: Intravenoso

III. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La hipótesis para el presente estudio fue: “Es posible obtener un eyaculado de calidad en vicuñas mediante la técnica de electroeyaculación”. Bajo esta premisa los objetivos de este trabajo fueron:

- a) Evaluar la contención química para el procedimiento de colección de semen en vicuñas (*Vicugna vicugna*).
- b) Evaluar sistemáticamente la técnica de electroeyaculación en vicuñas.
- c) Evaluar y caracterizar el eyaculado de vicuña; y
- d) Analizar los parámetros de biometría testicular en vicuñas.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Animales y localización

Fueron utilizados 9 ejemplares de Vicuña (*Vicugna vicugna*), machos, adultos (3 a 6 años), de procedencia desconocida. Cuatro animales se encontraban alojados en el Centro de Investigación y Producción (CIP) Quimsachata, de la Estación Experimental Illpa, Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA) - Puno, ubicado a 4200 m.s.n.m. entre los distritos de Santa Lucía y Cabanillas, provincias de Lampa y San Román respectivamente, Región Puno, a 15°04' S y 70°18' O. Tres vicuñas pertenecían a la colección del Parque Zoológico Huachipa (PZH), ubicado a 380 m.s.n.m., en la ciudad de Lima, Región Lima, a 12°00' S y 76°53' O. Los otros dos animales restantes pertenecían a la colección del Zoológico Municipal del Cerrito de la Libertad (ZCL), ubicado a 3300 m.s.n.m., en la ciudad de Huancayo, Región Junín, a 12°03' S y 75°11' O.

Los animales del CIP Quimsachata se encontraban en estado de semi-cautiverio, junto con hembras de la misma especie y hembras de alpaca (*Vicugna [Lama] pacos*). Los animales de los zoológicos se encontraban bajo condiciones de cautividad y eran mantenidos en recintos grupales de exhibición al público junto con hembras de la misma especie. Los animales seleccionados se encontraban bajo las mismas condiciones de manejo. En el caso de las vicuñas del CIP Quimsachata, éstas se encontraban bajo un régimen

alimenticio a base de pasturas naturales, mediante un pastoreo semi extensivo con acceso a alimento y agua *ad libitum*. Las vicuñas de los zoológicos estaban sometidas a una rutina alimenticia a base de heno de alfalfa (PZH y ZCL) pastura fresca (ZCL), y concentrado comercial (PZH), asimismo éstas contaban con acceso *ad libitum* al agua.

La edad de los animales del CIP Quimsachata fue estimada de acuerdo con la coloración y desgaste de los dientes incisivos (Fowler, 2007) y las características sexuales secundarias, considerándose principalmente la condición corporal. En el caso de los zoológicos, la edad fue corroborada mediante los registros de los animales. En la Tabla 3 se presentan los valores de edad y peso del total de animales empleados en el estudio.

4.2. Contención química

Fueron realizadas en total 19 contenciones químicas. Las tres primeras fueron tomadas como piloto para comprobar la efectividad del protocolo anestésico y fueron realizadas en los 3 ejemplares del Parque Zoológico Huachipa, durante el mes de Noviembre de 2006. Las dieciséis inmovilizaciones restantes fueron destinadas para la colección de semen, y fueron realizadas en los animales del CIP Quimsachata, durante los meses de Febrero y Marzo de 2007 y del Zoológico Municipal del Cerrito de la Libertad, durante los meses de Mayo y Setiembre de 2008. Para la contención química de los animales en estudio fueron utilizadas las siguientes asociaciones:

- a. PZH (Nov/06, n=3): ketamina-xilacina-atropina (Ket-A-Xyl[®], Agrovét Market, Perú): 8 mg Kg⁻¹ (ket.), 1,6 mg Kg⁻¹ (xil.), 0,08 mg Kg⁻¹ (atr.) y midazolam (Midanex[®], Laboratorio AC Farma, Perú): 0,3 mg Kg⁻¹.
- b. CIPQ (Feb-Mar/07, n=10): ketamina-xilacina-atropina (Ket-A-Xyl[®], Agrovét Market, Perú): 7,5 mg Kg⁻¹ (ket.), 1,5 mg Kg⁻¹ (xil.), 0,075 mg Kg⁻¹ (atr.)
- c. ZCL (May-Set/08, n=6): ketamina (Ketaminol 10[®], Intervet, Unión Europea): 8 mg Kg⁻¹, xilacina (AnaSed[®], Lloyd Laboratories, Estados Unidos): 0,5 mg

Kg⁻¹, atropina (Vetropina[®], Laboratorio Induvet, Perú): 0,05 mg Kg⁻¹, y Midazolam (Midanex[®], Laboriatorio AC Farma, Perú): 0,4 mg Kg⁻¹. (Fig. 8).

El peso de los animales fue estimado en base a registros anteriores (PZH y ZCL), o luego de una contención física (CIPQ). Para la inyección de las drogas anestésicas (vía I.M.), fueron utilizados: i) dardos, lanzados mediante una cerbatana, respetando la distancia máxima de 6 m (PZH y ZCL) (Fig. 10 y 11) y ii) jeringas descartables para aplicación directa (CIPQ y ZCL). Las zonas de inyección siguieron las recomendaciones hechas por Fowler (1978). De esta manera se obtuvo analgesia y relajamiento muscular, evaluados luego de que el animal estuvo en decúbito esternal (Fig. 12), y pérdida de los movimientos, que garantizaron la seguridad del equipo de trabajo, así como el bienestar del animal durante todo el procedimiento. Luego de la inducción anestésica, los animales recibieron un vendaje sobre los ojos y fueron tomados los datos de las funciones vitales (Fig. 13): frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria y temperatura, las cuales fueron monitoreadas luego de los primeros 10 minutos posteriores a la inducción y luego cada 10 minutos.

4.3. Biometría testicular

Se procedió a registrar las dimensiones testiculares. Fueron obtenidos los datos de largo y ancho de ambos testículos (n=16) mediante el uso de un vernier (Fig. 15). Los resultados obtenidos fueron incluidos en la siguiente fórmula:

$$V = L \times A^2 \times 0,524$$

donde V es el volumen a ser calculado, L es el largo del testículo, A el ancho del testículo elevado a la segunda potencia y 0,524 es una constante (Wolf *et al.*, 2000). De esta manera fue obtenido el volumen promedio por cada testículo. Para la obtención del volumen total se sumaron los volúmenes de los dos testículos ($V_t = V_i + V_d$).

Tabla 3. Registro de las vicuñas empleadas en el estudio: Identificación, edad y peso.

Numero de animales	Identificación	Edad (años)	Peso (Kg)
1	PZH1	6	29
2	PZH2	5	34
3	PZH3	6	30
4	CIPQ1	5	45
5	CIPQ2	6	40
6	CIPQ3	4	42
7	CIPQ4	3	44
8	ZCL1	4	38
9	ZCL2	3	40



Figura 8. Agentes anestésicos y sedativos utilizados en el estudio. Protocolo utilizado en el Zoológico Cerrito de la Libertad, Huancayo. Ketaminol 10® (Intervet, Unión Europea), Midanex® (Laboratorio AC Farma, Perú), AnaSed® (Lloyd Laboratories, Estados Unidos) y Vetropina® (Laboratorio Induvet, Perú). Foto: Gianmarco Rojas.



Figura 9. Pesado del animal luego de la contención física. CIP Quimsachata, Puno.
Foto: Marco A. Enciso.



Figura 10. Aplicación de dardo anestésico mediante cerbatana. Zoológico Cerrito de la Libertad, Huancayo. Foto: Marco A. Enciso.

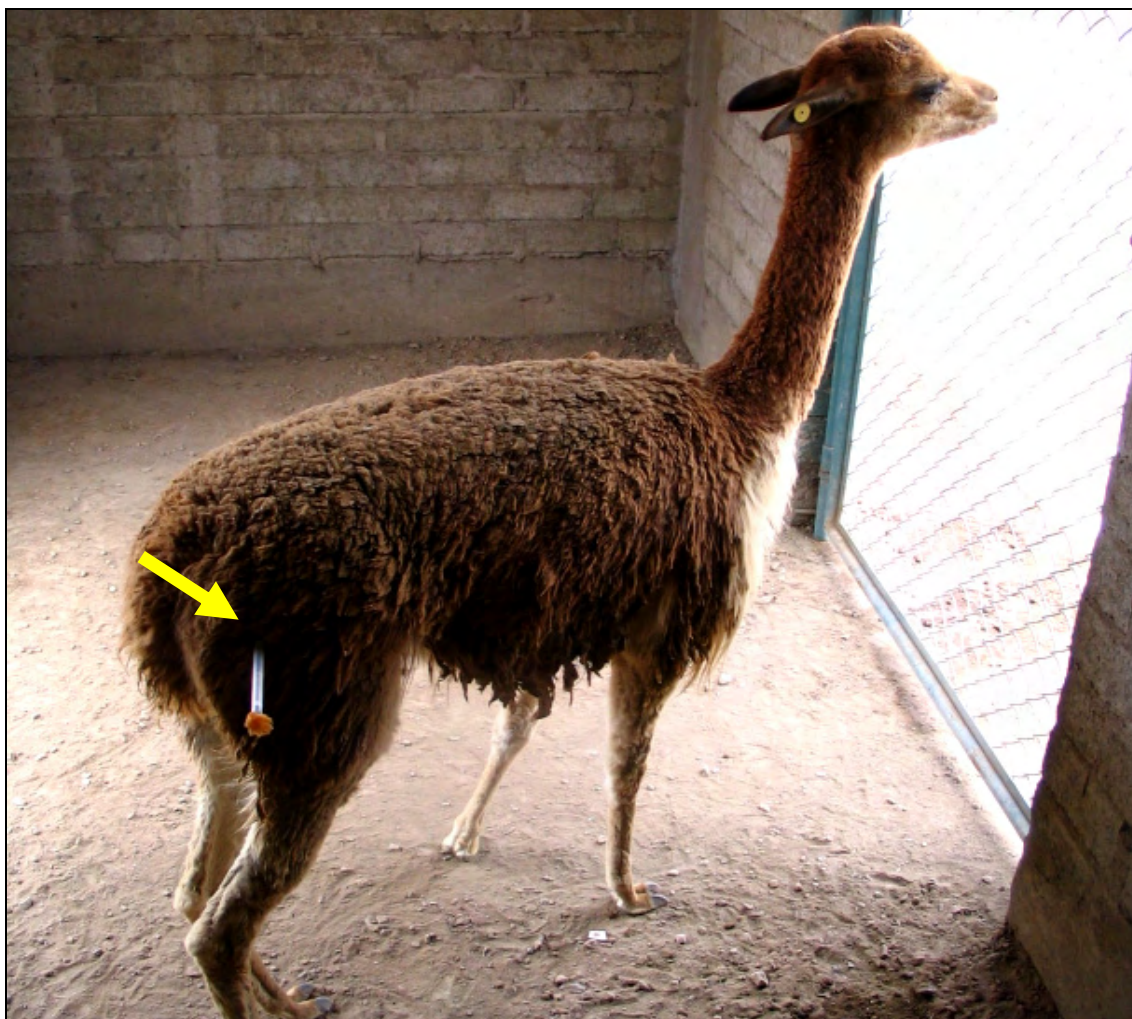


Figura 11. Vicuña en reposo luego de la aplicación del dardo anestésico (flecha). Parque Zoológico Huachipa, Lima. Foto: Gianmarco Rojas.



Figura 12. Vicuña en decúbito esternal bajo efectos de la anestesia. Zoológico Cerrito de la Libertad, Huancayo. Foto: Marco A. Enciso.



Figura 13. Monitoreo de los signos vitales durante la anestesia. Nótese la capucha sobre la cabeza para cubrir los ojos. Zoológico Cerrito de la Libertad, Huancayo. Foto: Marco A. Enciso.



Figura 14. Registro de las dimensiones testiculares. CIP Quimsachata, Puno. Foto: Marco A. Enciso.

4.4. Colección de semen

Para la colección de semen fue utilizada la técnica de electroeyaculación. El equipo utilizado para la generación de electrochoques fue el modelo Eletrojet® (Eletrovet, Brasil) (Fig. 15), equipo portátil semejante al utilizado para electroeyaculación de bovinos. El equipo fue alimentado por la energía de una batería portátil de 12V, y presentaba una llave que permitía la graduación del voltaje desde 0V hasta 12V y 100 μ A. Para la electroeyaculación fue utilizado un electrodo rectal bipolar, con tres tiras longitudinales de cobre de 9 cm de largo (Fig. 15). Las tiras de cobre presentaban 0,4 cm de distancia entre ellas y fueron construidas de forma que estuviesen salidas en aproximadamente 0,2 cm. El diámetro del transductor rectal fue de 2,0 cm de ancho.

Previo a la electroeyaculación (Fig. 16), los animales fueron colocados en posición decúbito lateral y preparados para la colección, para tal procedimiento fue lavada la zona prepucial con solución salina tibia (CINa 0.9 %) y se realizó la exposición del pene. Fueron retiradas las heces fecales y el transductor rectal fue debidamente lubricado con gel e introducido en el recto de 10 a 15 cm de acuerdo al animal. Con las tiras longitudinales posicionadas ventralmente, fue ejercida una ligera presión en la pared rectal, con el objetivo de aumentar el contacto con la región del plexo nervioso pélvico.

Los electrochoques fueron divididos en tres series. La primera serie consistió en 10 estímulos de 2V, 10 estímulos de 4V y 10 estímulos de 6V. La segunda serie consistió en 10 estímulos de 4V, 10 estímulos de 6V y 10 estímulos de 8V. La tercera serie consistió en 10 estímulos de 10V y 10 estímulos de 12V, haciendo un total final de 80 estímulos. Entre cada serie fueron dados de 3 a 4 minutos para el descanso del animal. La generación de cada estímulo fue realizada girando lentamente la llave de comando del electroeyaculador hasta llegar al voltaje deseado, el cual fue mantenido de 2 a 3 segundos, y enseguida retornando rápidamente a 0V. Luego de 1 a 2 segundos la operación era repetida, y así sucesivamente hasta el final de cada serie de estímulos.

Fueron realizadas 16 electroeyaculaciones en total. En los animales del CIP Quimsachata (n=4) fueron realizadas 10 electroeyaculaciones y en los animales del Zoológico del Cerrito de la Libertad (n=2) fueron realizadas 6.

4.5. Evaluación de semen

El semen fue colectado en tubos graduados de plástico, estériles y precalentados (Falcon[®], Estados Unidos) los cuales fueron mantenidos envueltos por la palma de la mano para que permanezcan calientes. Luego de la exposición del pene y su consiguiente lavado con solución fisiológica, éste fue dispuesto en el tubo de plástico. El material obtenido fue inmediatamente examinado en cuanto a aspecto, coloración y volumen (Fig. 17), luego la muestra se mantuvo a 37°C hasta completar la evaluación.

Para la medición del pH, una gota del material obtenido fue colocada sobre una tira reactiva (Merck[®], Estados Unidos). Luego una pequeña fracción del eyaculado fue depositada en una lámina de vidrio para microscopía, previamente calentada hasta 37°C, cubierta con una laminilla cubreobjetos y llevada a un microscopio binocular. Fue evaluada la motilidad espermática progresiva de acuerdo a lo descrito por Bravo *et al.* (1997a) y Ax *et al.* (2002). La concentración espermática fue medida en espermatozoides por mm³, haciéndose el conteo en una cámara de Neubauer. Luego se multiplicó el valor obtenido por 1000, resultando el número de espermatozoides por mililitro. Otra fracción del eyaculado fue fijada en formol al 10%. Una pequeña alícuota de este material fue preparada en una lámina de vidrio y teñida con el colorante comercial diff quik Tinción 15[®] (Biopur, Argentina), para la evaluación de la morfología espermática por microscopía. Fueron contadas entre 100 a 200 células por lámina y las patologías espermáticas fueron clasificadas en primarias y secundarias y presentadas en porcentajes. Para la determinación de los valores morfométricos, las células espermáticas fueron teñidas con coloración papanicolau y fue utilizado el sistema automático de análisis de semen por computadora Sperm Class Analyzer[®].

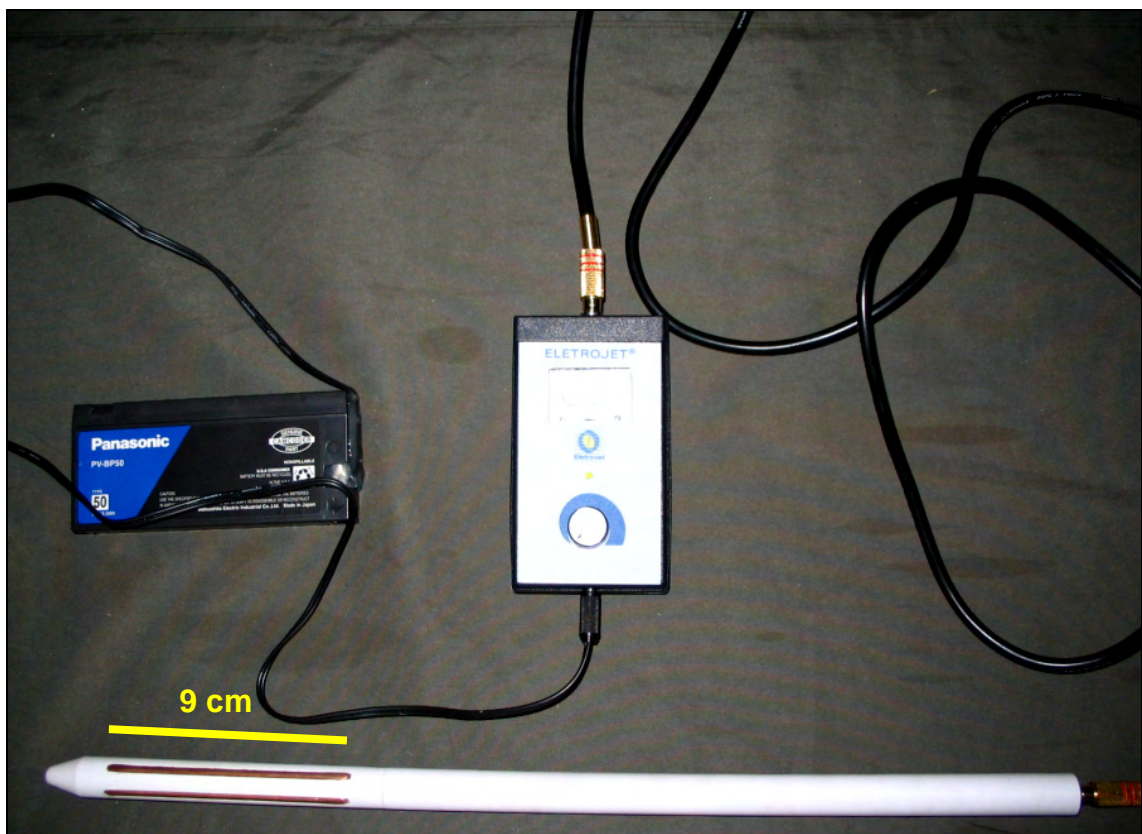


Figura 15. Electroeyaculador utilizado para la colección de semen de vicuñas. Modelo Eletrojet® (Eletrovet, Brasil). Foto: Marco A. Enciso.



Figura 16. Procedimiento de electroeyaculación. Zoológico Cerrito de la Libertad, Huancayo.
Foto: Marco A. Enciso.



Figura 17. Aspecto macroscópico del semen de vicuña.
Foto: Marco A. Enciso.

4.6. Análisis estadístico

Para la evaluación y caracterización de los eyaculados fueron utilizadas medidas de tendencia central (\bar{x}) y medidas de dispersión ($\bar{\sigma}$). Se utilizó la prueba de Correlación de Spearman para analizar las variables volumen testicular total vs. concentración espermática y volumen espermático. El nivel de significancia empleado para el análisis de los resultados fue de 5 %. Los resultados se presentan como media \pm error estándar de la media. Los datos obtenidos fueron analizados utilizando el paquete estadístico GraphPad Prism® 5.02 for Windows (GraphPad Software Inc., 2009).

V. RESULTADOS

5.1. Contención química

Fueron utilizados nueve ejemplares de Vicuña (*Vicugna vicugna*). La dosis general promedio utilizada fue de $7,83 \text{ mg Kg}^{-1}$ de ketamina; $1,20 \text{ mg Kg}^{-1}$ de xilacina y $0,07 \text{ mg Kg}^{-1}$ de atropina ($n=19$); y $0,35 \text{ mg Kg}^{-1}$ de midazolam ($n=9$). El tiempo de inducción anestésica general fue en promedio, de $7,32 \pm 0,51$ minutos. En cuanto al tiempo de inducción anestésica por protocolos se tiene que en el PZH el tiempo promedio de inducción fue de $7,00 \pm 2,08 \text{ min}$, en el CIPQ fue de $6,9 \pm 0,67 \text{ min}$, y el ZCL fue de $8,17 \pm 0,70 \text{ min}$. Se obtuvo una excelente analgesia y relajación muscular, evaluados por la falta de movilidad y ausencia de respuesta a estímulos musculares, que garantizaron el bienestar del animal y la seguridad del equipo de trabajo.

La frecuencia cardíaca general (FC) se mantuvo en promedio en 118 ± 3 latidos/minutos (LPM), la frecuencia respiratoria general (FR) se mantuvo en 30 ± 1 respiraciones/minuto (RPM) y la temperatura general (T°) se mantuvo a $38,3 \pm 0,13 \text{ }^\circ\text{C}$. Los datos disgregados por protocolos son, para el PZH, de $125 \pm 11 \text{ LPM}$, $31 \pm 3 \text{ RPM}$ y $37,6 \pm 0,03 \text{ }^\circ\text{C}$, para el CIPQ, de $117 \pm 4 \text{ LPM}$, $28 \pm 2 \text{ RPM}$ y $38,4 \pm 0,17 \text{ }^\circ\text{C}$; y para el ZCL de $117 \pm 3 \text{ LPM}$, $35 \pm 1 \text{ RPM}$ y $38,4 \pm 0,20 \text{ }^\circ\text{C}$. El comportamiento de las tres constantes FC, FR y T° , en función al tiempo total de anestesia por protocolo, es presentado en las Figuras 18, 19 y 20. En todos los casos los reflejos palpebrales y podales se mantuvieron

presentes. El retorno de la anestesia tuvo inicio en promedio a los $52,89 \pm 2,11$ minutos de iniciada la inmovilización, observándose generalmente un ligero aumento de la FR y movimientos de la cabeza y de las patas. En general, el retorno completo de la anestesia se daba de forma lenta y tranquila, llevando hasta 2 horas. El promedio del período anestésico efectivo total fue de $45,68 \pm 2,39$ min.

5.2. Electroeyaculación, evaluación espermática y biometría testicular

La electroeyaculación fue realizada 16 veces, obteniéndose eyaculado en 15 de los procedimientos, siendo el episodio no eyaculatorio debido a que el individuo retornó de la anestesia durante el procedimiento. En general, el inicio del procedimiento de electroeyaculación fue alrededor de los 15 minutos post inducción anestésica, luego de que se confirmara que el animal estuviese en el plano anestésico deseado. En promedio, el tiempo de duración de la electroeyaculación fue de $20 \pm 0,72$ min.

Hubo contaminación con orina en sólo un episodio, confirmada por disminución del pH y coloración amarillenta del eyaculado, el cual en la microscopía presentó espermatozoides muertos. En ese caso se realizaron varios cambios de tubos plásticos de colección del semen. En dos ocasiones (13,3 %) los eyaculados no contuvieron espermatozoides.

La coloración normal del eyaculado varió entre incolora y blanca semi lechosa. La consistencia de los eyaculados varió de ligeramente viscosa a viscosa en todos los casos. El pH observado en promedio fue de $7,09 \pm 0,16$. El volumen promedio obtenido fue de $0,85 \pm 0,12$ ml, con una motilidad espermática no progresiva promedio de $28,08 \pm 3,56$ %. La concentración espermática fue en promedio de $166,29 \pm 60,92 \times 10^4$ espermatozoides/ml, siendo el promedio de espermatozoides normales de $62,77 \pm 1,96$ % (Tabla 4, Fig. 21). El porcentaje de espermatozoides anormales fue de $37,23 \pm 1,96$ % (Fig. 22). Con respecto a la morfometría espermática los valores de la cabeza

del espermatozoide son los siguientes, longitud: $5,29 \pm 0,08 \mu$, ancho: $2,90 \pm 0,06 \mu$, área: $12,97 \pm 0,97 \mu^2$ y perímetro: $14,39 \pm 0,22 \mu$ (Fig. 23).

En relación a la biometría testicular, los valores encontrados fueron los siguientes: testículo derecho: $3,59 \pm 0,13$ cm (largo), $2,39 \pm 0,10$ cm (ancho) y $11,35 \pm 1,21$ cm³ (volumen); testículo izquierdo: $3,63 \pm 0,12$ cm (largo), $2,42 \pm 0,09$ cm (ancho) y $11,60 \pm 1,17$ cm³ (volumen). El valor de volumen testicular total encontrado en promedio fue de $22,95 \pm 2,28$ cm³. En el análisis de correlación entre las variables de volumen testicular total con volumen espermático y concentración espermática, los valores absolutos del coeficiente de correlación fueron de $r = 0,19$ ($p = 0,4883$) y $r = 0,15$ ($p = 0,6153$), respectivamente, con lo cual se demuestra que no existe grado de asociación entre dichas variables, siendo estadísticamente no significativo.

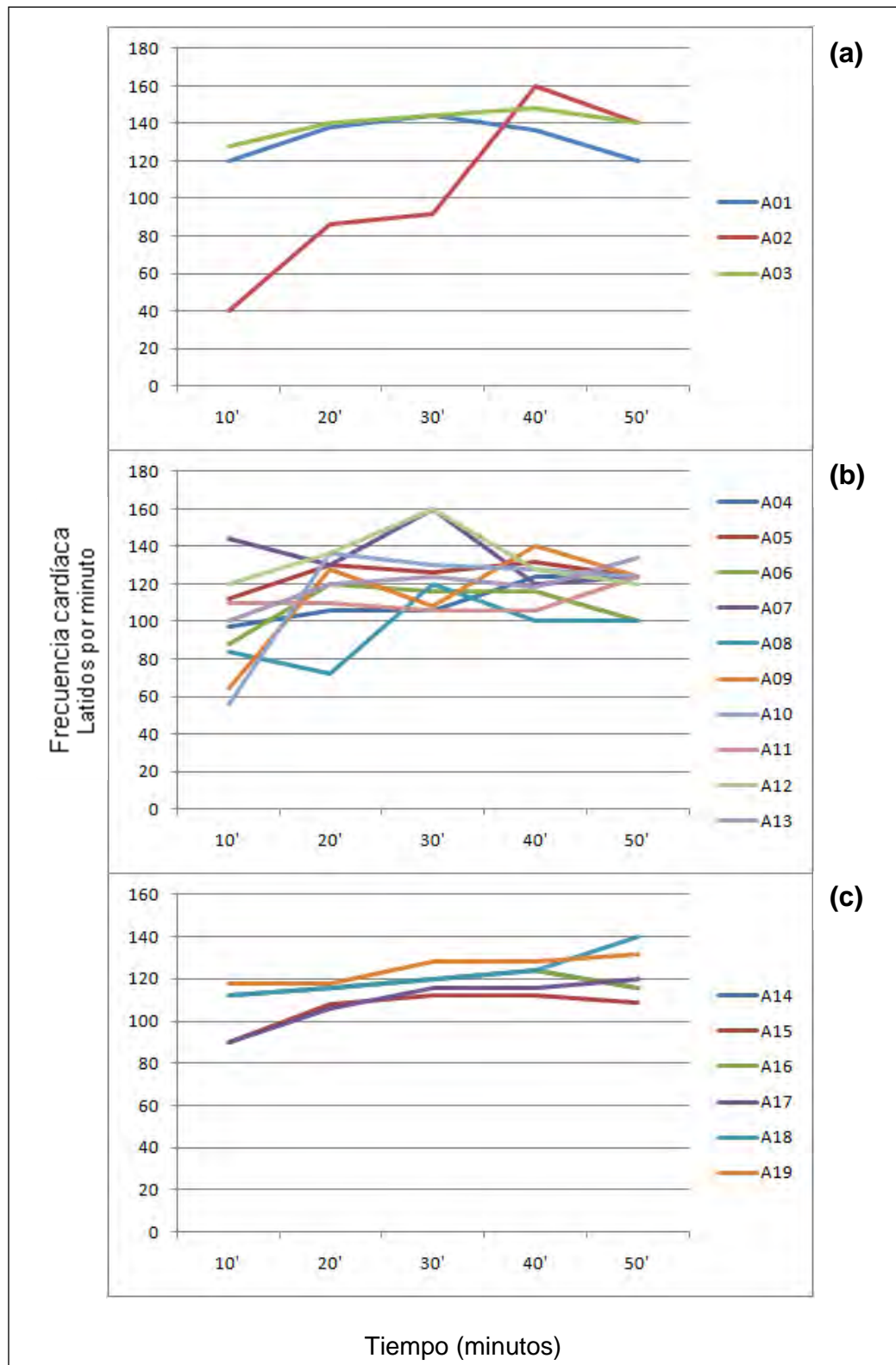


Figura 18. Variación en la frecuencia cardíaca de vicuñas sometidas a anestesia para electroeyaculación. Comparación por protocolos: (a) PZH, (b) CIPQ y (c) ZCL.

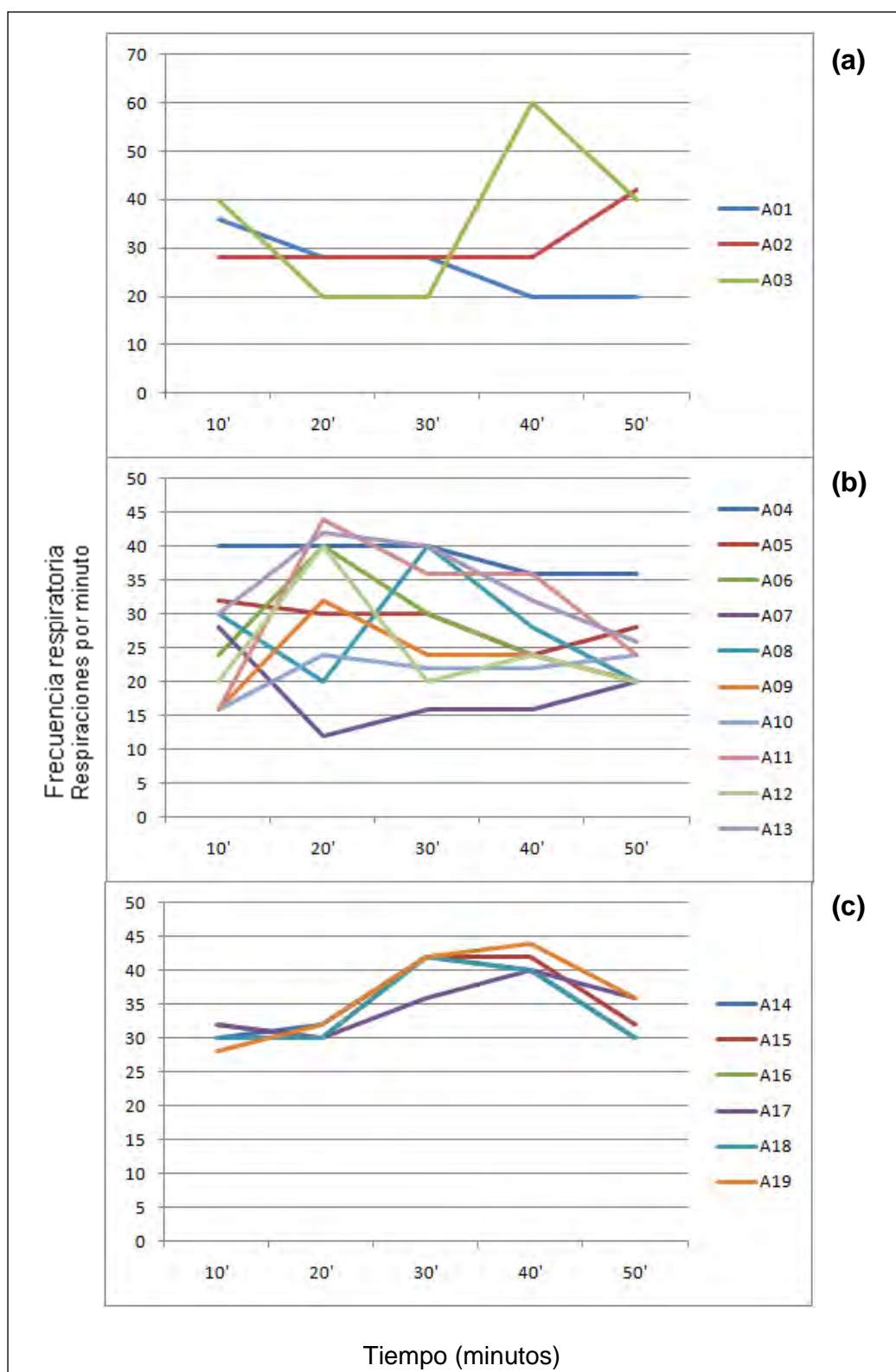


Figura 19. Variación en la frecuencia respiratoria de vicuñas sometidas a anestesia para electroeyaculación. Comparación por protocolos: (a) PZH, (b) CIPO y (c) ZCL.

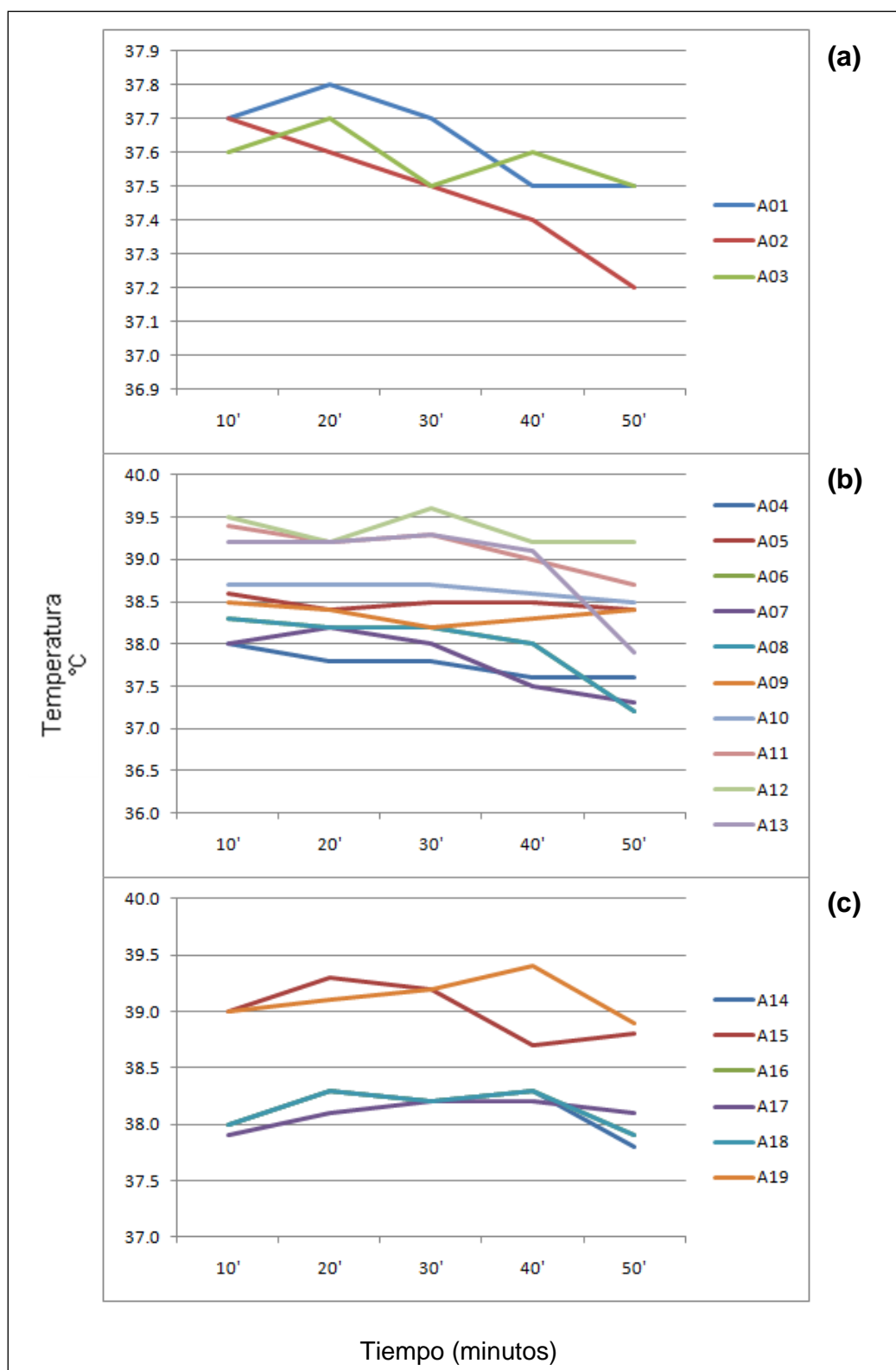


Figura 20. Variación en la temperatura de vicuñas sometidas a anestesia para electroeyaculación. Comparación por protocolos: (a) PZH, (b) CIPQ y (c) ZCL.

Tabla 4. Valores promedio de las características seminales en vicuña (*Vicugna vicugna*).

Parámetro	Media \pm EE	Mínimo	Máximo
Volumen (ml)	0,85 \pm 0,12	0,3	2,1
pH	7,09 \pm 0,16	6,0	8,5
Motilidad (%)	28,08 \pm 3,56	5	50
Concentración (espermatozoides/ml)	166,29 \pm 60,92 $\times 10^4$	1,8 $\times 10^4$	782 $\times 10^4$
Normalidad (%)	62,77 \pm 1,96	45	70
Anormalidad (%)	37,23 \pm 1,96	30	55
Defectos de cabeza (%)	13,38 \pm 3,97	7	20
Gota citoplasmática (%)	4,77 \pm 0,76	1	9
Defectos de cola (%)	19,08 \pm 1,42	10	33

Volumen y pH: n=15

Motilidad, concentración y morfología: n=13



Figura 21. Espermatozoides de vicuña, observación directa. Foto: Marco A. Enciso.

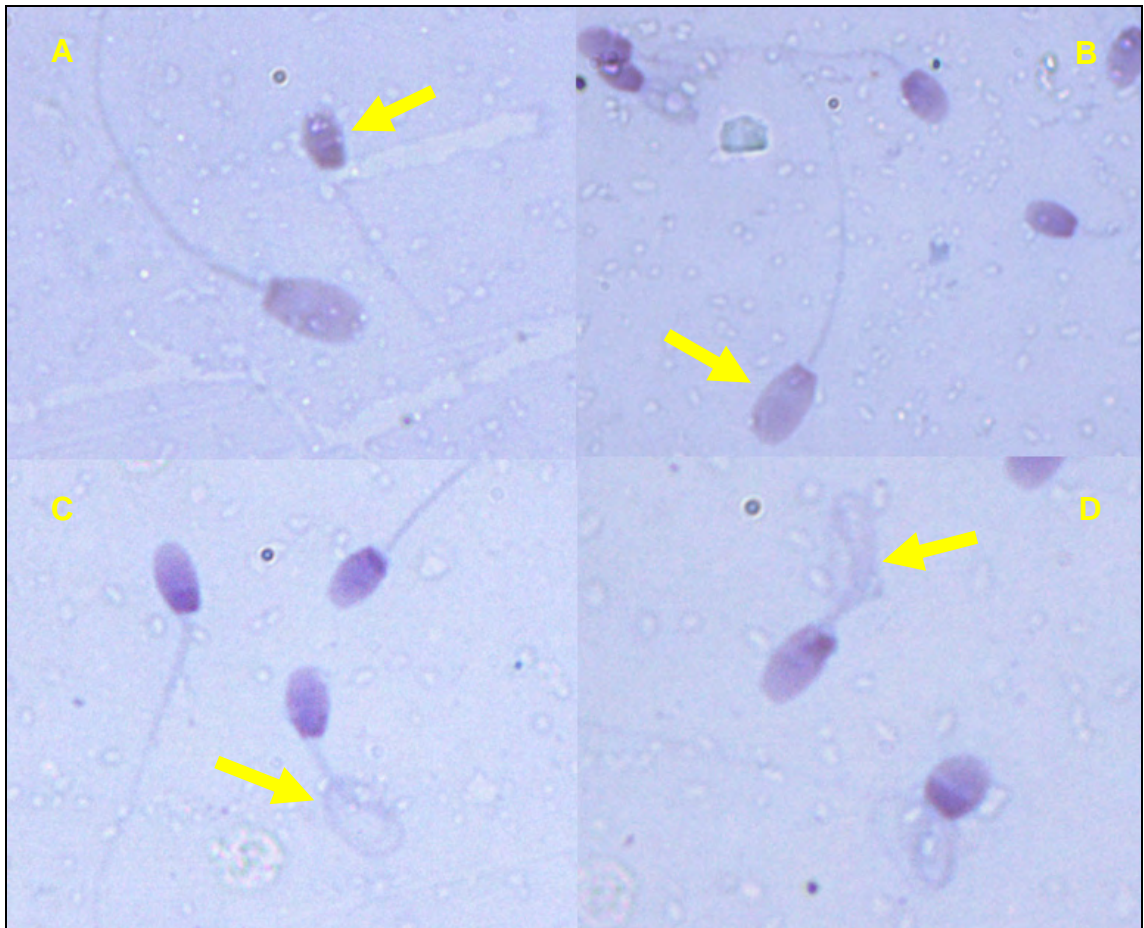


Figura 22. Anormalidades morfológicas de espermatozoides de vicuña. Tinción diff quik 100x. A. Microcefálico, B. Macrocefálico, C. Cola enrollada, D. Cola anudada. Foto: Marco A. Enciso.

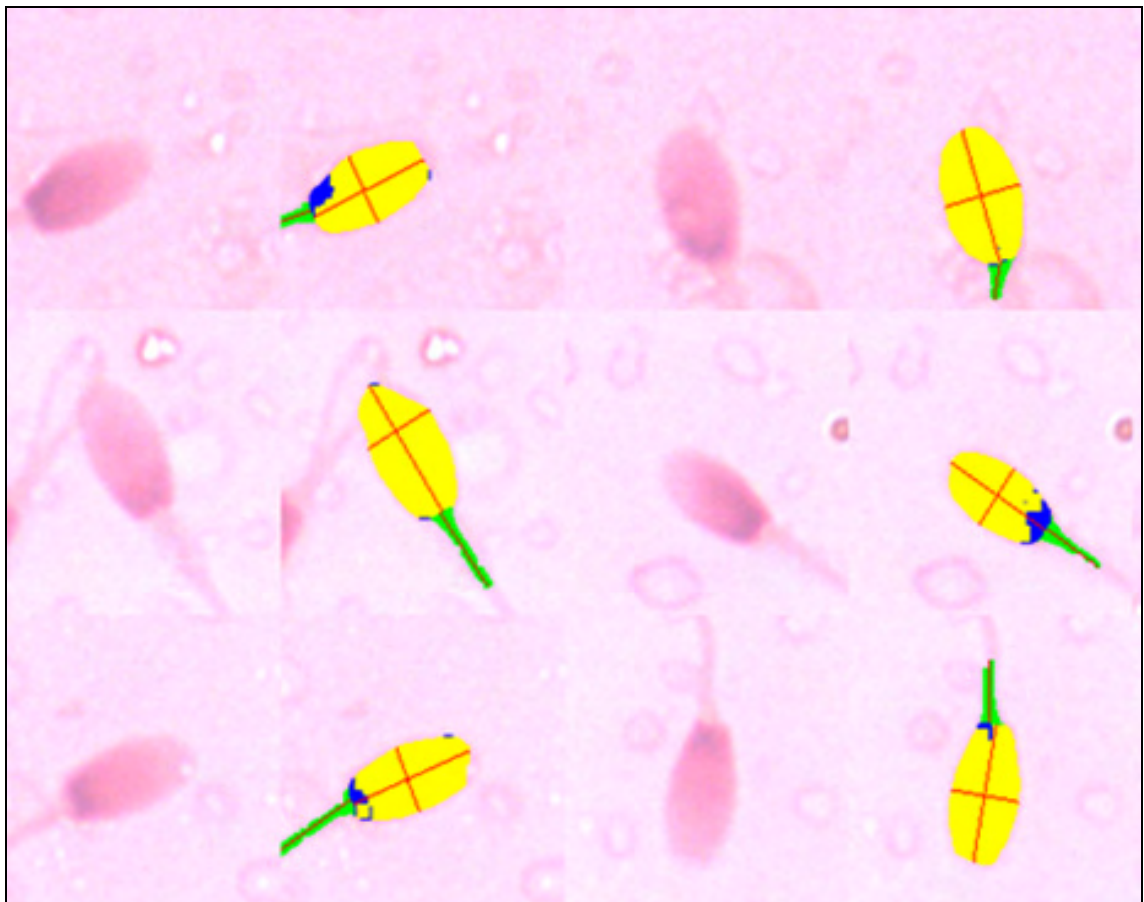


Figura 23. Imágenes del análisis morfométrico de espermatozoides de vicuña por el software Sperm Class Analyzer®. Tinción papanicolau. Foto: Marco A. Enciso

VI. DISCUSIÓN

Ésta es la primera vez que en el Perú se evalúa de manera sistemática los métodos de contención y colección de semen en vicuñas (*Vicugna vicugna*). A pesar que el reporte de Fernández Baca y Novoa (1968) cita a grandes rasgos la experiencia de colección de semen de vicuña para inseminar alpacas, no existen comunicaciones científicas que mencionen exclusivamente la evaluación de protocolos de inmovilización y colección de semen en ésta especie hasta la actualidad, a excepción del trabajo relatado por Giuliano *et al.* (2002), realizado en la República Argentina, con vicuñas de diferente subespecie.

Con respecto a la contención química, la asociación ketamina, xilacina y atropina, aplicada en la dosis promedio descrita anteriormente, se mostró muy eficiente para los procedimientos de electroeyaculación, al proporcionar la analgesia y la relajación muscular deseada, garantizando el bienestar para el animal y la seguridad para el equipo de trabajo. Las dosis promedio de ketamina, de 2 - 5 mg Kg⁻¹, recomendada por la mayoría de los autores (Garcia-Pereira *et al.*, 2006; Fowler, 2007; Mama, 2007), no fue utilizada, y en el caso de la dosis de 6 mg Kg⁻¹ sugerida por Nunes *et al.* (2007), ésta no proporcionó relajación muscular adecuada y el animal no ingresaba al estado anestésico deseado, siendo necesaria la complementación de la dosis hasta los 8 mg Kg⁻¹. Es importante señalar que las dosis utilizadas en el presente estudio están por encima de las reportadas en otros trabajos, y esto podría

deberse a las concentraciones de los fármacos comerciales utilizados y a otros factores inherentes a los animales, como edad, estado fisiológico, nivel de estrés, etc.

Evaluando independientemente los protocolos de contención química para cada lugar de muestreo, no se observaron diferencias en los períodos de tiempo de inducción anestésica o duración del período anestésico, lo que nos sugiere que en general, la ligera variación en las dosis de las drogas no representó ningún cambio en los efectos anestésicos deseados.

La inclusión de midazolam en los protocolos no afectó la respuesta de los animales, sólo contribuyó a disminuir la dosis de xilacina, algo que se podría recomendar, debido a que las experiencias con xilacina en CSA domésticos generalmente son negativas por el riesgo que implica, ya que pueden originar episodios de mortalidad (W. Huanca, comunicación personal).

Con respecto a las variables fisiológicas observadas durante el procedimiento anestésico, a nivel general éstas no sufrieron mayor cambio, notándose el incremento de las FC y FR poco antes de la recuperación de los animales. También fueron observados ligeros aumentos en estas constantes durante el tiempo de la aplicación de los pulsos eléctricos, sin embargo, ninguna de éstas alteraciones fueron significativas, lo que demuestra la buena calidad del protocolo anestésico utilizado.

A nivel de grupos, las variables fisiológicas no presentaron diferencias notorias, independientemente de que cada grupo se encontrara a diferente altitud sobre el nivel del mar. Según lo observado por Crossley *et al.* (1994) en alpacas, no se observa diferencia marcada en las constantes fisiológicas de CSA que viven en altitudes mayores a 4000 m.s.n.m, con respecto a animales que vivan a nivel del mar. Inclusive, el mismo autor evidencia que las constantes fisiológicas de CSA tienden a incrementarse ligeramente cuando se encuentran a poca altitud, fenómeno inverso a lo observado con especies que son trasladadas de tierras bajas hacia grandes altitudes.

Es importante resaltar que el uso de capuchas o mantas que cubrieran los ojos de los animales ayudó significativamente a que las vicuñas entren en

estado de anestesia más rápido. Con esas observaciones confirmamos lo sugerido por Michaud *et al.* (2006), respecto a que el uso de estas capuchas o vendajes oculares mejoran el manejo de las vicuñas, reduciendo el estrés.

En general, la electroeyaculación es la técnica base para la colección de semen en especies silvestres (Martin, 1978; Watson, 1978; Howard *et al.*, 1983; Wildt *et al.*, 1984; Howard, 1993), y es también de amplio uso en CSA (Fernández Baca y Calderón, 1966; Calderón *et al.*, 1968; Fernández Baca y Novoa, 1968; Fernández Baca, 1993; Aller *et al.*, 1997; Bravo *et al.*, 1997; Giuliano *et al.*, 2002; Huanca, 2005, Giuliano *et al.*, 2008). El protocolo de electroeyaculación sugerido por Platz *et al.* (1976), adaptado por Wildt *et al.* (1993) para todas las especies, y por Giuliano *et al.* (2008) para CSA, se mostró bastante eficiente, ya que de los 16 procedimientos se obtuvieron eyaculados en 15 de ellos. Cabe resaltar que el animal del que no se obtuvo muestra se despertó antes de terminado el protocolo de electroeyaculación, por lo tanto, en ese caso no se puede inferir que el procedimiento de colecta no tuvo éxito por sí mismo.

Fernández Baca y Novoa (1968), trabajando con colección de semen en vicuñas, utilizaron un protocolo que empleaba hasta 25V de intensidad en los impulsos eléctricos, con aparentemente 100% de efectividad. Similares resultados fueron los obtenidos por Giuliano *et al.* (2002), quien utilizó un protocolo de electroeyaculación gradual, desde 1V hasta 8V.

En nuestro estudio consideramos utilizar hasta 12V como máximo, debido que a 8V aún no había respuesta eyaculatoria en los animales, aunque ya se podía observar erección, tumefacción del pene y hasta movimientos de la extremidad distal del pene, característicos de los CSA (Bravo *et al.*, 2002). Asimismo, enfatizamos que habiendo llegado hasta los 12V inclusive, nunca hubo riesgo para los animales debido a que el amperaje máximo utilizado fue de 100 microamperios (μA), valor muy inferior a los máximos sugeridos de hasta 100 miliamperios (mA) (Rock, 1976).

La contaminación del eyaculado por orina ocurrió en apenas un solo individuo, resultando bastante satisfactorio si consideramos que éste es el

principal problema en el procedimiento de electroeyaculación (Fernández Baca y Calderón, 1966; Fernández Baca y Novoa, 1968; Seager y Platz, 1976; Platz *et al.*, 1976; Watson, 1978; Martin, 1978; Giuliano *et al.*, 2002). La contaminación del eyaculado por orina fue asociada a que el animal no fue sometido a un correcto ayuno de agua y comida el día anterior. Sin embargo la contaminación por orina también podría deberse al posicionamiento muy craneal del electrodo en el momento de la electroeyaculación, ya que parece haber cierta proximidad entre la innervación controladora de la micción y la innervación controladora de la eyaculación (Scott y Dziuk, 1959; Martin, 1978; Watson, 1978; Howard, 1993).

La variación en la coloración del semen obtenido se puede explicar por las diferencias en los eyaculados. Aquellos que no presentaban espermatozoides o que presentaban conteo bajo eran casi incoloros, a comparación de aquellos que presentaban coloración blanco lechosa, los cuales fueron más concentrados. Hay que resaltar también que en todos los eyaculados se observó la consistencia viscosa, característica del semen de CSA (Bravo *et al.*, 2002).

Como se mencionó anteriormente, la literatura sólo presenta dos reportes de trabajos sobre colección de semen en *V. vicugna*. El trabajo de Fernández Baca y Novoa (1968) sólo menciona los valores de volumen seminal, con un promedio de $2,5 \pm 0,78$ ml en un total de 12 colecciones en dos animales. Giuliano *et al.* (2002), con un mismo número de animales y 9 colecciones de semen hace un análisis más detallado y menciona volúmenes entre 1 a 2,5 ml, pH de 7 a 7,7, motilidad menor al 10 % en promedio, y concentraciones que van desde los 10000 a los 140000 espermatozoides/ml. Asimismo, registraron un porcentaje de espermatozoides normales desde 66 a 75 %, y los siguientes defectos espermáticos: cabeza anormal (4 – 6 %), sólo cabeza (0 – 6 %), defectos de cola (6 – 14 %) y gota citoplasmática (7 – 13 %).

En cuanto a los valores de volumen seminal, hay cierta concordancia en los valores de Fernández Baca y Novoa (1968) y Giuliano *et al.* (2002), ya que ambos muestran valores por encima de 1 ml, siendo los de Fernández Baca y Novoa (1968) aún más altos en promedio. Nuestro valor promedio de volumen

seminal, $0,85 \pm 0,12$ ml, es al parecer más bajo en comparación a las referencias, sin embargo, se podría suponer que en el primer estudio, en 1968, la medición del volumen seminal no fue exacta.

Con respecto al pH, los valores de Giuliano *et al.*, (2002) y los nuestros, son muy similares, algo que no sucede en el caso de la motilidad, donde refiere valores $< 10\%$, siendo los encontrados por nosotros considerablemente más altos, con sólo una muestra con motilidad menor del 5 %.

En cuanto a la concentración, aparentemente los valores de Giuliano *et al.*, (2002) son más bajos, pero eso podría deberse al método de dilución y conteo de las muestras, y los valores de concentración obtenidos en nuestro estudio, son en general, muy similares a los hallados en la gran cantidad de estudios hechos en la alpaca (Bravo *et al.*, 1997a, 1997b, 2002; Dávalos y Olazábal, 2002; Giuliano *et al.*, 2008). Cabe resaltar que los CSA son especies que difieren de los demás mamíferos por la pésima producción espermática en relación a su volumen corporal, a comparación de los ovinos, por ejemplo.

Con respecto a los valores de normalidad de espermatozoides, el promedio obtenido, $66,77 \pm 1,6$, está dentro del rango reportado por Giuliano *et al.* (2002), sin embargo, el porcentaje de las anomalías espermáticas observadas es ligeramente inferior al de nuestro estudio. Los resultados obtenidos nos indican que los animales estudiados podrían estar comprometidos con problemas de fertilidad.

Las causas de baja calidad espermática y elevado índice de espermatozoides morfológicamente anormales son de difícil interpretación. Generalmente las alteraciones en la calidad espermática están relacionadas a tres grandes factores: genéticos, nutricionales y ambientales. Por ejemplo, Vaughan (2002), en estudios realizados en Australia, menciona que es común el hallazgo de elevados índices de espermatozoides anormales en CSA domésticos, dato relacionado a la baja tasa de fertilidad que tienen éstas especies. En nuestro país, la tasa de fertilidad no llega ni al 50 % en explotaciones alpaqueras (Novoa, 1970); sin embargo, en un estudio realizado en Chile son referidas tasas de fertilidad en vicuñas bajo control reproductivo,

superiores al 79 %, lo que podría indicar que el factor de la baja calidad seminal de los machos no sería tan determinante en la producción de crías Parraguez y Raggi (2008).

Con respecto a la biometría testicular, los valores encontrados en el presente estudio son similares a los encontrados por Huanca *et al.* (2006) en vicuñas de vida libre, quienes reportan valores promedio de $3,2 \pm 0,4$ cm x $2,2 \pm 0,4$ cm (largo x ancho) para el testículo derecho, y $3,1 \pm 0,4$ cm x $2,1 \pm 0,3$ cm (largo x ancho) para el testículo izquierdo, siendo los nuestros ligeramente más altos. Del mismo modo Tibary y Vaughan (2006) registran dimensiones testiculares desde los $1,1 \pm 0,7$ cm hasta los $3,5 \pm 1,9$ cm en vicuñas de 1 a 4 años de edad.

En cuanto al volumen testicular, los valores presentados aquí son los primeros registrados para la especie, sin embargo el volumen testicular total no puede ser utilizado como medida predictiva de calidad espermática en vicuñas, ya que no fue encontrada asociación entre las variables volumen testicular total y volumen seminal y concentración espermática, debido a que no se correlacionaban entre sí de manera significativa ($r = 0,19$ y $r = 0,15$; $p > 0,05$). No obstante, podrían tomarse en cuenta esas variables para sugerir un estudio reproductivo estacional en la especie y determinar si hay una real relación del volumen testicular sobre la calidad espermática en diferentes periodos estacionales.

VII. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos nos permiten concluir que:

1. La contención química de vicuñas (*Vicugna vicugna*) a través de la asociación: ketamina, xilacina y atropina, es segura para procedimientos de electroeyaculación y otros.
2. La técnica de electroeyaculación empleada es eficiente para la obtención de eyaculados en vicuña, y debe ser adoptada rutinariamente para la obtención de muestras de semen.
3. Las características del eyaculado de vicuña son en promedio similares a las encontradas en los Camélidos Sudamericanos domésticos.
4. Los valores de biometría testicular de vicuñas encontrados en el presente estudio son similares a los descritos por otros autores, asimismo, el volumen testicular no puede ser utilizado como medida predictiva de calidad espermática en la especie.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aller J.F., L. Ferré, G. Rebuffi, R.H. Alberio. 1997.** Recolección de semen de llama (*Lama glama*) en la Puna Argentina. *Veterinaria Argentina*. 14:104-107.
- Ax R.L., M. Dally, B.A. Didion, R.W. Lenz, C.C. Love, D.D. Varner, B. Hafez, M.E. Bellin. 2002.** *Evaluación del semen*. En: Hafez E.S.E., B. Hafez (eds.). Reproducción e inseminación artificial en animales. Ed. McGraw Hill-Interamericana, México D.F. México. p.375-386.
- Barth A.D., R.J. Oko. 1989.** *Abnormal morphology of bovine spermatozoa*. Iowa State University Press, Ames. Estados Unidos. 285p.
- Bhasin S., G.S. Benson. 2006.** *Male sexual function*. En: Neill J.D. (ed.). Knobil and Neill's Physiology of Reproduction. 3rd ed. Academic Press, St. Louis. Estados Unidos. p.1173-1194.
- Benson G.S. 1994.** *Male sexual function: erection, emission, and ejaculation*. En: Knobil E. y J.D. Neill (eds.). The Physiology of Reproduction. 2nd ed. Raven Press, New York. Estados Unidos. p.1489-1506.
- Berndtson W.E., C. Desjardins. 1974.** The cycle of the seminiferous epithelium and spermatogenesis in the bovine testis. *American Journal of Anatomy*. 140:167-178.

- Bravo P.W., D. Flores, C. Ordóñez. 1997a.** Effect of repeated collection on semen characteristics of Alpacas. *Biology of Reproduction*. 57:520-524.
- Bravo P.W., U. Flores, J. Garnica, C. Ordóñez. 1997b.** Collection of semen and artificial insemination of alpacas. *Theriogenology*. 47:619-626.
- Bravo P.W., R. Moscoso, V. Alarcón, C. Ordóñez. 2002.** Ejaculatory process and related semen characteristics. *Archives of Andrology*. 48:65-72.
- Cabrera A. 1932.** Sobre los camélidos fósiles y actuales de la América austral. *Revista del Museo de La Plata*. 33:89-117.
- Calderón W., J. Sumar, E. Franco. 1968.** Avances en la inseminación artificial de las alpacas (*Lama pacos*). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM*. 22:19-35.
- CBSG. 2009.** *Conservation Breeding Specialist Group (CBSG)*, International Union for Conservation of Nature (IUCN). (Online) Disponible en: <http://www.cbsg.org/cbsg/> [12/01/09]
- Clermont Y., C.P. Leblond. 1955.** Spermiogenesis of man, monkey, ram and other mammals as shown by the "periodic acid-schiff" technique. *American Journal of Anatomy*. 96:229-250.
- CITES. 2009.** *Vicugna*. En: Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora. Appendix I, II and III. (Online) Disponible en: <http://www.cites.org/gallery/species/mammal/vicugna.html> [12/01/09]
- Crossley J.C., M.P. Marín, G. Ferrando, L.A. Raggi. 1994.** Modificaciones adaptativas de algunas constantes fisiológicas de alpaca (*Lama pacos*) sometidas a cambio de ambiente. *Archivos de Zootecnia*. 43:215-223.
- Dávalos R., J. Olazábal. 2002.** Evaluación de dos formas de colección de semen en alpacas. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 13:98-99.
- Dowling D.F. 1961.** Electrical stimulation of ejaculation in the bull. *The Australian Veterinary Journal*. 37:176-181.

- Dziuk P.J., E.F. Graham, W.E. Petersen. 1954.** The technique of electroejaculation and its use in dairy bulls. *Journal of Dairy Science*. 37:1035-1041.
- El Comercio. 2009.** Cazadores furtivos matan a más de 50 vicuñas en Andahuaylas. En: El Comercio.com.pe 16/02/09, Lima. Perú. (Online) Disponible en: <http://www.elcomercio.com.pe/noticia/246982/cazadores-furtivos-matan-mas-50-vicunas-andahuaylas> [18/02/09]
- Enciso M.A. 2009.** La creación de Bancos de Recursos Genómicos para la conservación de especies amenazadas. *Revista Bios*. 2(1):4-8.
- Fahmy L.S., K.A. Farag, M.B. Mostafa, A.A. Hegazy. 1995.** Propofol anesthesia with xylazine and diazepam premedication in camels. *Journal of Camel Practice and Research*. 2:111-114.
- Fernández Baca S., W. Calderón. 1966.** Métodos de colección de semen de la alpaca. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM*. 18-20:13-26.
- Fernández Baca S., C. Novoa. 1968.** Primer ensayo de inseminación artificial de alpacas (*Lama pacos*) con semen de vicuña (*Vicugna vicugna*). *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria UNMSM*. 22:9-17.
- Fernández Baca S. 1993.** Manipulation of reproductive functions in male and female New World Camelids. *Animal Reproduction Science*. 33:307-323.
- Flores Ochoa J.A. 1977.** *Pastores de puna uywamichiq punarunakuna*. Instituto de Estudios Peruanos, Lima. Perú. 305p.
- Fowler M.E. 1978.** *Restraint and handling of wild and domestic animals*. Iowa State University Press, Ames. Estados Unidos. 332p.
- Fowler M.E. 1989.** *Anesthesia*. En: Fowler M.E. (ed.). *Medicine and surgery of South American Camelids*. Iowa State University Press, Iowa. Estados Unidos. p.51-63.

- Fowler M.E. 1998.** *Anesthesia*. En: Fowler M.E. (ed.). *Medicine and surgery of South American Camelids*. 2nd ed. Iowa State University Press, Iowa. Estados Unidos. p.89-107.
- Fowler M.E. 2007.** *Artiodactyla – Camelidae*. En: Cubas Z.S., J.C.R. Silva, J.L. Catão-Dias (eds.). *Tratado de Animais Selvagens. Medicina Veterinária*. Ed. Roca, São Paulo. Brasil. p.630-640.
- Franklin W.L. 1978.** *Socioecology of the vicuña*. University Microfilms International, Ann Arbor. Estados Unidos. 169p.
- Franklin W.L. 1982.** *Biology, ecology and relationship to man of the South American Camelids*. En: Mares M.A., H.H. Henoway (eds.). *Mammalian biology in South America*. Pymatuning Laboratory of Ecology Special Publication 6. University of Pittsburgh, Linesville. Estados Unidos. p.457-489.
- Furman J.W., L. Ball, G.E. Seidel. 1975.** Electroejaculation of bulls using pulse waves of variable frequency and length. *Journal of Animal Science*. 40:665-670.
- Garcia Pereira F.L., S.A. Greene, M.-M. McEwen, R. Keegan. 2006.** Analgesia and anesthesia in camelids. *Small Ruminant Research*. 61:227-233.
- Gavier D., M.D. Kittleson, M.E. Fowler, L.E. Johnson, G. Hall, D. Nearemborg. 1988.** Evaluation of a combination of xylazine, ketamine and halothane for anesthesia in llamas. *American Journal of Veterinary Research*. 49:2047-2055.
- Giuliano S., A. Director, M. Gambarotta, V. Trasorras, M. Miragaya. 2008.** Collection method, season and individual variation on seminal characteristics in the llama (*Lama glama*). *Animal Reproduction Science*. 104:359-369.

- Giuliano S., S.E. Spirito, M.H. Miragaya, E.F. Capdevielle, A. Agüero, M.D. Boquet, M.R. Ferrari. 2002.** Electroejaculation and seminal parameters in Vicugna (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology*. 57:583 (Abstract)
- Gomendio M., E. Roldán, J. Garde, G. Espeso. 2006.** El papel de las biotecnologías reproductivas en la conservación animal. *Ecosistemas*. 15(2):50-57.
- Guraya S.S. 1987.** *Biology of spermatogenesis and spermatozoa in mammals*. Springer-Verlag, Berlín. Alemania. 430p.
- Healey P., R.M.F.S. Sadleir. 1966.** The construction of rectal electrodes for electro-ejaculation. *Journal of Reproduction and Fertility*. 11:299-301.
- Hesse B. 1982.** Archaeological evidence for Camelid exploitation in the Chilean Andes. *Säugetierkundliche Mitteilungen*. 30:201-211.
- Hofmann R.K., K.C. Otte, C.F. Ponce del Prado, M.A. Rios. 1983.** *El manejo de la Vicuña silvestre*. Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ), Eschborn. Alemania. 705p.
- Holt W.V., P.M. Bennett, V. Volobouev, P.F. Watson. 1996.** Genetic resource banks in wildlife conservation. *Journal of Zoology*. 238:317-324.
- Howard J.G. 1993.** *Semen collection and analysis in carnivores*. En: Fowler M.E. (ed.). *Zoo & Wild Animal Medicine. Current Therapy 3*. W.B. Saunders, Philadelphia. Estados Unidos. p.390-399.
- Howard J.G., D.E. Wildt, P.K. Chakraborty, M. Bush. 1993.** Reproductive traits including seasonal observations on semen quality and serum hormone concentrations in the dorcas gazelle. *Theriogenology*. 20:221-234.
- Huanca W. 2005.** Aplicación de biotecnologías reproductivas en especies domésticas y silvestres de camélidos sudamericanos. *Agrociencia*. 9:505-509.

- Huanca W., O Cárdenas, R. Sapana, N. Apaza. 2006.** *Características biométricas en vicuñas (Vicugna vicugna) machos y hembras y niveles de testosterona en vicuñas (Vicugna vicugna) machos.* En: Miragaya M, M. Olivera, S. Puig (eds.). Resúmenes IV Congreso Mundial sobre Camélidos, Santa María. Argentina. p.33. (Abstract)
- Hurtado de Mendoza L. 1987.** *Notas arqueológicas y etnohistóricas acerca de la vicuña en el antiguo Perú.* En: Torres H. (ed.). Técnicas para el manejo de la Vicuña. IUCN, Grand. Suiza. p.13-23.
- INRENA. 2009.** *Categorización de especies amenazadas de fauna silvestre. Aprobado por D.S. 034-2004-AG (22.09.04).* Instituto Nacional de Recursos Naturales (INRENA), Lima. Perú. (Online) Disponible en: http://www.inrena.gob.pe/iffs/biodiv/catego_fauna_amenazada.pdf [12/01/09]
- Johnston L.A., D.L. Armstrong, J.L. Brown. 1994.** Seasonal effects on seminal and endocrine traits in the captive snow leopard (*Panthera uncia*). *Journal of Reproduction and Fertility.* 102:222-236.
- Jurgens K.D., M. Pietschmann, K. Yamaguchi, T. Kleinschmidt. 1988.** Oxygen binding properties, capillary densities and hearth weights in high altitude camelids. *Journal of Comparative Physiology B.* 158:469-477.
- Kadwell M., M. Fernández, H.F. Stanley, R. Baldi, J.C. Wheeler, R. Rosadio, M.W. Bruford. 2001.** Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and alpaca. *Proceedings of the Royal Society of London B.* 268:2575-2584.
- Koford C.B. 1957.** The vicuña and the puna. *Ecological Monographs.* 27:153-219.
- Kreeger T.J., J.M. Arnemo. 2007.** Handbook of wildlife chemical immobilization. 3rd ed. Ed. Terry J. Kreeger. Estados Unidos. 432p.

- Lichtenstein G., L. Villalba, D. Hoces, R. Baigún, J. Laker. 2008.** *Vicugna vicugna*. En: IUCN 2008, 2008 IUCN Red List of Threatened Species. (Online) Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/details/22956> [12/01/09].
- MacFadden B.J., O. Siles, P. Zeitler, N.M. Johnson, K.E. Campbell. 1983.** Magnetic polarity stratigraphy of the middle Pleistocene (Ensenadan) Tarija formation of southern Bolivia. *Quaternary Research*. 19:172-187.
- Mama K.R. 2007.** *Camelids*. En: West G., D. Heard, N. Caulkett (eds.). Zoo & Wild Animal Immobilization and Anesthesia. Blackwell Publishing, Ames. Estados Unidos. p.585-594.
- Mann T., C. Lutwak-Mann. 1981.** Male reproductive function and semen. Springer-Verlag, New York. Estados Unidos. 495p.
- Marden W.G.R. 1954.** New advances in the electroejaculation of the bull. *Journal of Dairy Science*. 37:556-561.
- Marin J.C., B. Zapata, B.A. González, C. Bonacic, J. C. Wheeler, C. Casey, M.W. Bruford, R.E. Palma, E. Pulín, M.A. Alliende, A.E. Spotorno. 2007.** Sistemática, taxonomía y domesticación de alpacas y llamas: nueva evidencia cromosómica y molecular. *Revista Chilena de Historia Natural*. 80:121-140.
- Martin I.C.A. 1978.** The principles and practice of electroejaculation of mammals. *Symposium of the Zoological Society of London*. 43:127-152.
- Mastroianni L., W.A. Manson. 1963.** Collection of monkey semen by electroejaculation. *Proceedings of the Society of Experimental Biology and Medicine*. 112:1025-1027.
- McDonnell S.M. 1992.** Ejaculation: physiology and dysfunction. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 8(1):57-70.

- Michaud E., M.A. Enciso, W. Huanca, A. Rodríguez, J. Zuzunaga. 2006.** *Variación en las constantes fisiológicas en vicuñas (Vicugna vicugna mensalis) de Pampa Galeras, utilizando dos técnicas de manejo al momento de la esquila.* En: Miragaya M, M. Olivera, S. Puig (eds.). Resúmenes IV Congreso Mundial sobre Camélidos, Santa María. Argentina. p.30. (Abstract)
- Miller G.R. y A.L. Gill. 1990.** Zooarchaeology at Pirincay, a formative period site in highland Ecuador. *Journal of Field Archaeology*. 17:49-68.
- Miller S., J. Rottman, R.D. Taber. 1973.** Dwindling and endangered ungulates of Chile: *Vicugna*, *Lama*, *Hippocamelus* and *Pudu*. *North American Wildlife Conference*. 38:55-68.
- Morato R.G., M.A.B.V. Guimarães, A.L.V. Nunes, A.C. Carciofi, F. Ferreira, V.H. Barnabe, R.C. Barnabe. 1998.** Colheita e avaliação do sêmen em onça pintada (*Panthera onca*). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 35:178-181.
- Novaes A.P. 1990.** *Contenção mecânica e farmacológica de animais.* Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA), São Carlos. Brasil. 68p.
- Novoa C. 1970.** Reproduction in camelidae. Review. *Journal of Reproduction and Fertility*. 22:3-20.
- Novoa C. 1989.** Genetic improvement of South American Camelids. *Revista Brasileira de Genética*. 12:123-135.
- Nunes A.L.V., M.L. Cruz, S.R.G. Cortopassi. 2007.** *Anestesiologia.* En: Cubas Z.S., J.C.R. Silva, J.L. Catão-Dias (eds.). *Tratado de Animais Selvagens.* Medicina Veterinária. Ed. Roca, São Paulo. Brasil. p.1040-1067.
- O'Brien S.J., J.F. Evermann. 1988.** Interactive influence of infectious disease and genetic diversity in natural populations. *Trends in Ecology & Evolution*. 3:254-259.

- Parraguez V.H., L.A. Raggi. 2008.** *Reproducción de la vicuña (Vicugna vicugna) en cautiverio: Mitos y realidades.* En: Resúmenes I Simposium Internacional de Biotecnología Aplicada en Camélidos Sudamericanos y I Congreso Nacional de Reproducción y Mejoramiento Genético de Camélidos Sudamericanos, Huancavelica. Perú. p.102-130.
- Paucar A., J. Tellez, L. Neyra, J. Rodriguez. 1984.** *Estudio tecnológico del beneficio de las vicuñas.* En: Villinger, F. (ed.). La Vicuña. Ed. Los Pinos, Lima. Perú. p.33-48.
- Palma E., J.C. Marin, A. Sportorno, J.L. Galaz. 2001.** *Phylogenetic relationships among South American subspecies of camelids base don sequences of the cytochrome b mitochondrial gene.* En: Gerken, M, C. Reinieri (eds.). Progress in South American camelids research. Wageningen Press, Wageningen. Holanda. p.44-52.
- Pearson O.P. 1951.** Mammals in the highlands of southern Peru. *Bulletin of the Museum of Comparative Zoology.* 106:117-174.
- Platz C.C. Jr., T. Follis, N. Demorest, S. Seager. 1976.** *Semen collection, freezing and insemination in the domestic cat.* En: Proceedings of 8th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Krakow. Polonia. p.1053-1055.
- Platz C.C. Jr., W.J. Seager. 1978.** Semen collection by electroejaculation in the domestic cat. *Journal of American Veterinary Medical Association.* 173:1353-1355.
- Platz C.C. Jr., D.E. Wildt, J.G. Howard, M. Bush. 1983.** Electroejaculation and semen analysis and freezing in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *Journal of Reproduction and Fertility.* 67:9-12.
- Prieto A., J. Canto. 1997.** Presencia de un lamoide atípico en Cueva Lago Sofía 4 (Última esperanza) y Tres Arroyos (Tierra del Fuego), Región de Magallanes, Chile. *Anales del Instituto de la Patagonia. Serie Ciencias Humanas.* 25:147-150.

- Pujalte J.C., A.N. Reca. 1985.** *Vicuñas y Guanacos. Distribución y ambientes.* En: Cajal J.L. y J.N. Amaya (eds.). Estado actual de las investigaciones sobre camélidos en la República Argentina. SECyT, Buenos Aires. Argentina. p.25-49.
- Ralls K., K. Brugger, J. Ballou. 1979.** Inbreeding and juvenile mortality in small populations of ungulates. *Science*. 206:1101-1103.
- Riebold T.W., A.J. Kaneps, W.B. Schmotzer. 1989.** Anesthesia in the Llama. *Veterinary Surgery*. 18:400-404.
- Rock K.C. 1976.** *Safe use of electronic equipment.* En: Klemm W.R. (ed.). Applied electronics for veterinary medicine and animal physiology. Charles C. Thomas, Springfield. Estados Unidos. p.442-450.
- Rowson L.E., M.I. Murdoch. 1954.** Electrical ejaculation in the bull. *The Veterinary Record*. 66:326-327.
- Rutter B., A. Russo. 2006.** *Bases para la evaluación de la aptitud reproductiva del toro.* 2^{da} ed. Ed. AgroVet, Buenos Aires. Argentina. p.67-100.
- Salisbury G.W., N.L. van Demark. 1961.** *Physiology of reproduction and artificial insemination of cattle.* W.H. Freeman, San Francisco. Estados Unidos. 639p.
- Schneiders A., J. Sonksen, J.K.Hodges. 2004.** Penile vibratory stimulation in the marmoset monkey: a practical alternative to electro-ejaculation, yielding ejaculates of enhanced quality. *Journal of Medical Primatology*. 33:98-104.
- Scott J.V., P.J. Dziuk. 1959.** Evaluation of the electroejaculation technique and the spermatozoa thus obtained from rats, mice and guinea pigs. *Anatomical Record*. 133:655-664.
- Seager S.W.J., C.C. Platz Jr. 1976.** *Semen collection and freezing in captive wild mammals.* En: Proceedings of 8th International Congress on Animal Reproduction and Artificial Insemination, Krakow. Polonia. p.1075-1077.

- Sharpe R.M. 1994.** *Regulation of spermatogenesis*. En: Knobill E., J.D. Neill (eds.). *The physiology of reproduction*. 2nd ed. Raven Press, New York. Estados Unidos. p.1363-1434.
- Solano P., M. Cerdán, J.L. Capella. 2007.** *Manual de instrumentos legales para la conservación privada en el Perú*. 3^{ra} ed. Sociedad Peruana de Derecho Ambiental (SPDA), Lima. Perú. 279p.
- Stølen K.A., G. Lichtenstein, N. Renaudeau d'Arc. 2009.** *Local participation in Vicuña management*. En: Gordon I.J. (ed.). *The Vicuña. The theory and practice of community-based wildlife management*. Springer Science, New York. Estados Unidos. p.81-96.
- Swanson W.F., J.L. Brown, D.E. Wildt. 1996.** Influence of seasonality on reproductive traits of the male pallas' cat (*Felis manul*) and implications for captive management. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 27:234-240.
- Thomas O. 1917.** Preliminary diagnosis of new mammals obtained by the Yale National Society Peruvian Expedition. *Smithsonian Miscellaneous Collection*. 68:1-3.
- Tibary A., J. Vaughan. 2006.** Reproductive physiology and infertility in male South American camelids: A review and clinical observations. *Small Ruminant Research*. 61:283-298.
- Torres H. 1992.** *South American Camelids. An action plan for their conservation*. IUCN/SSC South American Camelids Specialist Group. International Union for Conservation of Nature and Natural Resources (IUCN), Gland. Suiza. 48p.
- Vaughan J. 2002.** *Improving the efficiency of reproduction and breeding in alpacas*. Rural Industries Research and Development Corporation, Barton. Australia. 20p.
- Vilá B.L. 1999.** Importancia de la etología en la conservación y manejo de las vicuñas. *Etología*. 7:63-8.

- Vilá B.L. 2000.** *Comportamiento y organización social de la vicuña.* En: González B., B. Bas, C. Tala y A. Iriarte (eds.). Manejo sustentable de la vicuña y el guanaco. Imp. L. Flores, Santiago. Chile. p.191-209.
- Watson P.F. 1978.** A review of techniques of semen collection in mammals. *Symposium of the Zoological Society of London.* 43:97-126.
- Weisbroth S., F.A. Young. 1965.** The collection of primate semen by electroejaculation. *Fertility and Sterility.* 16:229-235.
- Wheeler J.C., E. Pires-Ferreira, P. Kaulicke. 1976.** Preceramic animal utilization in the central Peruvian Andes. *Science.* 194(4264):483-490.
- Wheeler J.C. 1988.** *Nuevas evidencias arqueozoológicas acerca de la domesticación de la alpaca y la llama y el desarrollo de la ganadería autóctona.* En: Flores J.A. (ed.), Llamicheros y paqocheros. Ed. UNSAAC, Cusco. Perú. p.45-57.
- Wheeler J.C. 1995.** Evolution and present situation of the South American Camelidae. *Biological Journal of the Linnean Society.* 54:271-295.
- Wheeler J.C. 2006.** *Historia Natural de la Vicuña.* En: Vilá B. (ed.), Investigación, conservación y manejo de vicuñas. Proyecto MACS, Buenos Aires. Argentina. p.25-35.
- Wildt D.E., M. Bush, J.G. Howard, S.J. O'Brien, D. Weltzer, A. Van Dyk, H. Ebedes, D.J. Brand. 1983.** Unique seminal quality in the south African cheetah and a comparative evaluation in the domestic cat. *Biology of Reproduction.* 29:1019-1025.
- Wildt D.E., D. Meltzer, P.K. Chakraborty, M. Bush. 1984.** Adrenal-testicular-pituitary relationships in the cheetah subjected anesthesia/electroejaculation. *Biology of Reproduction.* 30:665-672.
- Wildt D.E. 1989.** Reproductive research in conservation biology: Priorities and avenues for support. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine.* 4:391-395.

- Wildt D.E., U.S. Seal, W.F. Rall. 1993.** *Genetic resource banks and reproductive technology for wildlife conservation*. En: Cloud J.G. y G.H. Thorgaard (eds.), *Genetic conservation of salmonid fishes*. Plenum Press, New York. Estados Unidos. p.159-173.
- Wildt D.E., W.F. Rall, J.K. Critser, S.L. Monfort, U.S. Seal. 1997.** Genome resource banks. Living collection for biodiversity conservation. *BioScience*. 47:389-398.
- Wildt D.E., C. Wemmer. 1999.** Sex and wildlife: the role of reproductive science in conservation. *Biodiversity and Conservation*. 8:965-976.
- Wildt D.E., S. Ellis, D. Janssen, J. Buff. 2002.** *Toward more effective reproductive science for conservation*. En: Holt W.V., A.R. Pickard, J. Rodger y D.E. Wildt (eds.). *Reproductive Science and Integrated Conservation*. Conservation Biology Series 8. Cambridge University Press, Londres. Reino Unido. p.2-20.
- Winterhalder B., R.B. Thomas. 1978.** *Geoecology of southern highland Peru. A human adaptation perspective*. Occasional Paper No 27. Institute of Arctic and Alpine Research, University of Colorado, Boulder. Estados Unidos. 99p.
- Wolf K.N., D.E. Wildt, A. Vargas, P.E. Marinari, J.S. Kreeger, M.A. Ottinger, J.G. Howard. 2000.** Age-dependent changes in sperm production, semen quality, and testicular volume in the Black-footed Ferret (*Mustela nigripes*). *Biology of Reproduction*. 63:179-187.
- Zúñiga M.A. 2004.** *Camélidos silvestres en la región Arequipa: ¿Dónde están y cuántos son?*. Asociación Nacional para el Desarrollo Sostenible (Andes Sostenible), Arequipa. Perú. 65p.

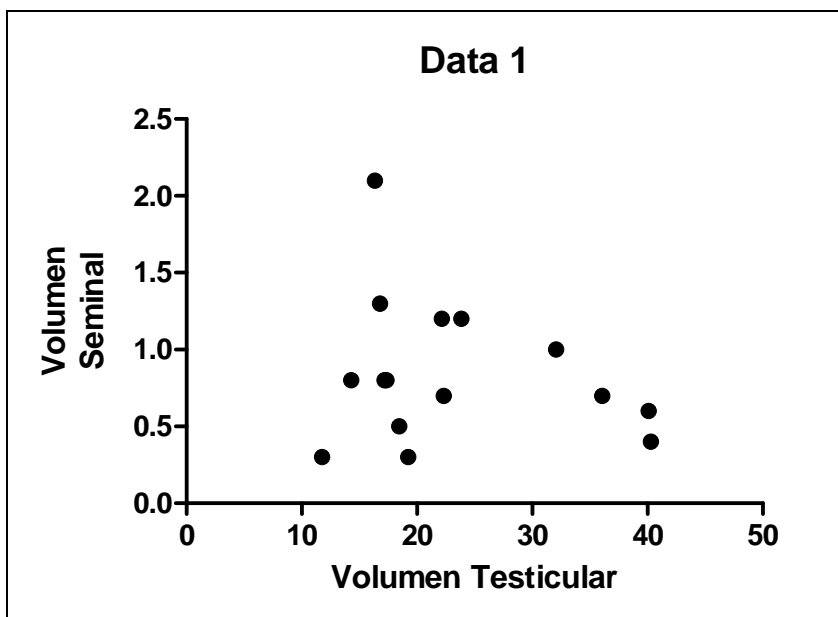
IX. ANEXOS

Anexo 1. Prueba de Correlación de Spearman. Volumen testicular vs Volumen seminal

Spearman correlation. GraphPad 5.02

Volumen Testicular vs. Volumen Seminal

Number of XY Pairs	15
Spearman r	-0.1941
95% confidence interval	-0.6523 to 0.3680
P value (two-tailed)	0.4883
P value summary	ns
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	No



Anexo 2. Prueba de Correlación de Spearman. Volumen testicular vs Concentración espermática.

Spearman correlation. GraphPad 5.02

Volumen Testicular vs. Concentración Espermática

Number of XY Pairs	13
Spearman r	-0.1541
95% confidence interval	-0.6604 to 0.4486
P value (two-tailed)	0.6153
P value summary	ns
Exact or approximate P value?	Gaussian Approximation
Is the correlation significant? (alpha=0.05)	No

